Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **G. Embden**-Frankfurt a. Main, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **U. Friedemann**-Berlin, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Roehmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunundvierzigster Band.

Ausgegeben am 15. März 1913.

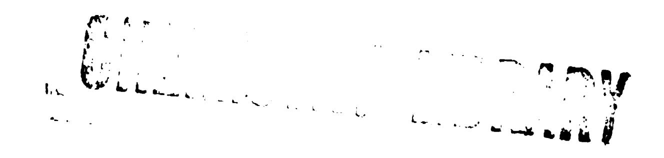


Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.









Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunundvierzigster Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1913.



Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Zur Methodik der Zuckerbestimmung. II.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 10. Januar 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Vor einigen Jahren habe ich unter obigem Titel ein Verfahren zur Bestimmung des Traubenzuckers publiziert, das darin besteht, daß das gebildete Kupferoxydul bei Gegenwart von Rhodankalium als farbloses Kupferrhodanür in Lösung gehalten wird. Das überschüssig vorhandene Kupferoxyd wird schließlich durch Hydroxylamin reduziert. Der Verbrauch an Hydroxylaminlösung entspricht dem nicht reduzierten Kupferoxyd, wodurch man aus der Differenz das von dem Zucker reduzierte Kupferoxyd berechnen kann.

Die Methode ist von verschiedenen Seiten nachgeprüft worden und hat allgemein eine günstige Aufnahme gefunden. Sie wird auch jetzt in allen Lehrbüchern als eine einfache und bequeme Methode empfohlen.

Wenn sie trotzdem bis jetzt keine mehr allgemeine Verwendung gefunden hat, sind die Ursachen jedenfalls zum Teil in einigen Unbequemlichkeiten zu suchen, die dem Verfahren anhaften.

1. Die Titrationsflüssigkeiten sind recht teuer, und da ziemlich viel davon (50 ccm der Kupferlösung) verwendet wird, kostet eine Analyse unbestreitlich bedeutend mehr als nach den früheren Titrationsmethoden.

2. Die Kupferlösung ist nicht unbegrenzt haltbar. Nach 3 Monaten hat sich der Titer so sehr geändert, daß die Lösung unbrauchbar geworden ist (Andersen).

3. Die Vorschrift zur Bereitung der Kupferlösung muß genau befolgt werden. Setzt man z. B. die Kupfersulfatlösung vor dem Wasser dem Rhodankalium zu, so wird der Titer falsch. Ja, es genügt sogar, daß man das Kupfersulfat in 100 ccm Wasser anstatt in 150 ccm auflöst, um bei dem folgenden Zusatz zur Rhodansalzlösung einen falschen Titer zu erhalten (Jessen-Hansen). Man kann auch nicht später, z. B. durch Verdünnung, den richtigen Titer herstellen. Ist der Titer einmal falsch geworden, so muß man die Lösung verwerfen. Befolgt man aber die Vorschriften genau, so tritt diese Eventualität nicht ein.

4. Die Herstellung der stark salzhaltigen Lösung erfordert Zeit und Geduld.

5. Bei der titrimetrischen Bestimmung reiner Zuckerlösungen bekommt man zwar richtige Werte. Da aber auch andere Stoffe als Zucker die Kupferlösung reduzieren, so bekommt man bei der Untersuchung auf Zucker in Harn und Blut etwas höhere Werte als nach den anderen Reduktionsmethoden, wahrscheinlich aus dem Grunde, weil die Lösung mehr Alkali (als Carbonat) und besonders viel mehr Salz enthält als gewöhnlich. Der Siedepunkt ist deswegen etwas höher und die reduzierende Wirkung stärker. Hierzu kommt, daß auch das in Lösung gebliebene Kupferoxydul mit bestimmt wird, was bei der gravimetrischen Bestimmung nach Allihn oder Bertrand nicht vorkommt. Dieser Umstand besagt jedoch weniger — ja kann oft einen Vorteil bedeuten.

In der Hoffnung, daß die oben angeführten Unannehmlichkeiten sich beseitigen lassen, habe ich versucht, das Kaliumrhodanid durch andere Salze zu ersetzen. Hierzu eignen sich, wie man sich von vornherein denken kann, die Halogensalze. Besonders ist das Jodkalium geeignet, kommt aber des hohen Preises wegen nicht in Betracht. Das Bromkalium ist auch brauchbar, aber auch etwas teuer, da das Verfahren möglichst billig sein soll. Diese Forderung erfüllt aber das Kaliumchlorid, das auch das Kupferoxydul als farblose Verbindung in Lösung halten kann. Der Preis des Kaliumchlorids beträgt etwa ein Drittel von dem des Rhodankaliums. Es ist auch klar, daß eine mit KCl versetzte Kupferlösung unverändert haltbar ist, wenn genügend Kaliumcarbonat dabei ist; die organischen Stoffe, die beim Stehen das Kupferoxyd reduzieren, fehlen ganz.

Schließlich kommen keine Schwierigkeiten betreffs des Titers vor. Das Rhodankalium reduziert an sich einen größeren oder geringeren Teil des Kupferoxyds gleich beim Zusatz je nach der Konzentration, was selbstverständlich beim Kaliumchlorid nicht der Fall ist.

Vollkommen kann aber das KCl das KCNS nicht ersetzen: KCl vermag nur relativ geringe Kupferoxydulmengen in Lösung zu halten. Während man beim KCNS eine 60 mg Zucker entsprechende Kupferoxydulmenge in (50 ccm) Lösung hält, läßt sich beim KCl nicht mehr als eine höchstens 20 mg Zucker entsprechende Kupferoxydulmenge in Lösung halten. Die Erklärung hierfür ist leicht zu geben. Das Kupferrhodanür ist nicht dissoziiert, während das Kupferchlorür ionisiert ist. Bei Gegenwart von Alkalicarbonat hat man das Gleichgewicht:

$$Cu_2Cl_2 + K_2CO_3 \rightleftarrows Cu_2O + 2\,KCl + CO_2.$$

Das Kupferchlorür kann nur bei Gegenwart von reichlichem Kaliumchlorid existieren. Das Kupferchlorür ist weiter in der überschüssigen Kaliumchloridlösung löslich. Verdünnt man aber eine solche farblose, wasserklare Lösung mit Wasser, so scheidet sich das abdissoziierte Kupferoxydul aus. Ganz ähnlich verhält sich übrigens Silberchlorid in alkalicarbonathaltiger Lösung.

Durch den Ersatz des Rhodankaliums durch Kaliumchlorid sind die meisten obengenannten Schwierigkeiten beseitigt. Die Methode ist bedeutend billiger als vorher, die Lösung ist haltbar, ihre Bereitung ist einfacher. Vermindert man außerdem den Gehalt an Alkalicarbonat, so geht die Herstellung schneller und das Reduktionsvermögen fremder Stoffe fällt fort. Außerdem wird dadurch die Methode noch billiger.

Selbsverständlich kann man auch hier das überschüssige Kupferoxyd durch Hydroxylamin bestimmen. Nur muß man das Rhodankalium der Hydroxylaminlösung durch Kaliumchlorid ersetzen. Man kann weiter nach dem Prinzip der Pavyschen Methode arbeiten, d. h. man setzt von der Zuckerlösung, die entsprechend verdünnt sein muß, während des Kochens hinzu bis zur Farblosigkeit. Tatsächlich bietet dies Verfahren den bedeutenden Vorteil dar, daß die Lösung kein Ammoniak enthält, man braucht folglich nicht unter Luftabschluß zu titrieren. Wenn aber keiner von diesen Vorschlägen weiter ausgearbeitet worden ist, so liegt der Grund darin, daß es

sich herausgestellt hat, daß man das folgende Titrationsverfahren ganz wesentlich verbessern und verschärfen kann, und zwar in der Weise, daß man nicht wie früher das nicht reduzierte Kupferoxyd bestimmt und daraus das vom Zucker reduzierte indirekt berechnet, sondern dadurch, daß man direkt das vom Zucker reduzierte Kupferoxydul titrimetrisch bestimmt. Das bedeutet prinzipiell einen wesentlichen Vorteil: man hat nicht nötig, den Titer der Kupferlösung exakt festzustellen, da nur das reduzierte Kupferoxydul titriert wird. Was sonst übrig bleibt, ist — innerhalb gewisser Grenzen — für die Titration gleichgültig. Also braucht man nur bei der Bereitung der Kupferlösung die Salze auf der Handwage grob abzuwägen und nicht wie früher (bei Fehling, Pavy, Knapp und Bang I) peinlich genau auf der chemischen Präzisionswage.

Die erforderlichen Lösungen und ihre Zubereitung.

1. Die Kupferlösung. Man löst zuerst 160 g $KHCO_3$, 100 g K_2CO_3 und 66 g KCl mit etwa 700 ccm Wasser in einem 1 l-Kolben. Da das Bicarbonat recht schwer löslich ist, empfiehlt es sich, dasselbe zu pulverisieren und zuerst in Lösung zu bringen. Dies geht recht schnell, wenn man die Temperatur auf ca. 30° erhöht (das Lösen des Salzes bedingt ein Sinken der Temperatur). Nachher wird das KCl gelöst und schließlich unter schwacher Abkühlung das Monocarbonat in Lösung gebracht. Jetzt fügt man 100 ccm einer 4,4$^0/_0$igen Lösung von $CuSO_4 + 5H_2O$ hinzu (man kann auch das Salz in Substanz zusetzen) und füllt schließlich mit Wasser auf bis zur Marke, wenn die geringe Kohlensäureentwicklung vorüber ist. Es empfiehlt sich, die Lösung nur leise zu schütteln. Beim kräftigen Schütteln wird so viel Luft absorbiert, daß bei dem Kochen mit Zucker etwas zu wenig Kupferoxyd reduziert werden kann. Aus diesem Grunde darf die Lösung nur nach 24stündigem Stehen verwendet werden. Diese Lösung bildet die Kupferstammlösung. Von der Stammlösung werden 300 ccm mit gesättigter Kaliumchloridlösung auf 1000 ccm verdünnt. Auch hier darf man nur leise schütteln und am besten die Lösung erst, nachdem sie einige Stunden gestanden hat, benutzen, wenn man ganz exakte Zuckerwerte anstrebt.

2. Die Titrierflüssigkeit ist eine $^{n}/_{100}$- (bzw. $^{n}/_{10}$- oder $^{n}/_{25}$-) Jodlösung. Bekanntlich wird eine Kupferoxydlösung durch JK unter Bildung von freiem Jod reduziert:

$$CuCl_2 + KJ = CuCl + KCl + J.$$

Diese Reaktion ist zwar umkehrbar, verwendet man aber einen Überschuß von JK, so verläuft die Reaktion praktisch ganz nach rechts, d. h. unter Bildung von CuCl. Bei der Titration nach Lehmann wird deswegen auch das nach der Reduktion durch Zucker zurückgebliebene Kupferoxyd nach Ansäuern mit Schwefelsäure jodometrisch bestimmt. Da aber diese Reaktion nur langsam zu Ende geht und zudem einen bedeutenden Überschuß von JK fordert, so ist sie nicht sehr praktisch und jedenfalls nicht sehr billig. Sie hat auch keine allgemeine Verwendung gefunden.

Diese Reduktion des Kupferoxyds durch JK findet nur bei saurer Lösung statt. In alkalischer Lösung wirkt J nach meinen Erfahrungen ganz anders. Hier wirkt das freie Jod oxydierend unter Bildung von Kupferoxyd, während Kupferoxyd nicht angegriffen wird:

$$CuCl + J + K_2CO_3 = CuCO_3 + KCl + JK.$$

Diese Reaktion ist bei den gewünschten Versuchsbedingungen jedenfalls nicht reversibel. Hat man also das Kupferoxydul als farblose Verbindung in Lösung, so verbraucht diese Lösung Jod unter Bildung des blauen Kupferoxyd-Kaliumcarbonats. Diese Oxydation schreitet außerordentlich schnell fort. Folglich ist die jodometrische Bestimmung des Kupferoxyduls sehr bequem. Es ist aber klar, daß fixe Alkalien nicht vorhanden sein dürfen, sondern daß auch hier — wie übrigens bei meiner ersten Methode — die Lösung nur Carbonate, und zwar überwiegend Bicarbonate enthalten darf.

Die $^{n}/_{100}$-Jodlösung wird entweder durch Verdünnung einer $^{n}/_{10}$-Lösung mit ausgekochtem Wasser bereitet. Es hat sich erwiesen, daß eine solche Jodlösung in einer dunkelgefärbten Flasche aufbewahrt ihren Titer unverändert während drei Monaten beibehält. Man kann dieselbe aber auch bequem für den täglichen Verbrauch aus Jodid und Jodat herstellen: Man gießt etwa 1 ccm einer 2%igen KJO_3-Lösung in ein 100 ccm-Meßkölbchen, setzt etwa 2—2,5 g JK[1]) und weiter genau 10 ccm

[1]) In meinem Buch „Der Blutzucker" ist fehlerhaft 2 g JK auf 50 ccm Gesamtlösung angegeben.

$^{n}/_{10}$-HCl hinzu. Eine der Säure äquivalente Jodmenge wird freigemacht und löst sich in dem überschüssig vorhandenen Jodkalium auf:

$$KJO_3 + 5\,JK + 6\,HCl = 6\,KCl + 3\,H_2O + 6\,J.$$

Bei Verwendung von Salzsäure geht der Umsatz augenblicklich quantitativ zu Ende. Schwefelsäure ist aber hierzu weniger gut brauchbar. Man füllt schließlich mit Wasser bis zur Marke auf.

3. Als Indicator wird Stärkelösung verwendet. Nun ist aber auch die Kupferlösung blaugefärbt. Man konnte also erwarten, daß der Umschlagspunkt wenig scharf sein wird, besonders weil die reduzierte farblose Kupferlösung durch die Oxydation immer mehr blau wird. Es soll auch zugegeben werden, daß der Umschlagspunkt nicht so schön wie bei einer farblosen Flüssigkeit ausfällt; hat man eine 20 mg Zucker entsprechende Kupferlösung (50 ccm), so ist auch der Umschlagspunkt nicht leicht exakt festzustellen. Bei einer verdünnteren Kupferlösung (50 ccm = 10 mg Zucker) ist diese Lösung himmelblau gefärbt und kontrastiert scharf gegen die tiefblaue Jodstärkefärbung. Selbst bei Verwendung von $^{n}/_{100}$-Jodlösung ist der Umschlagspunkt sehr exakt und differiert nur um 2 bis 3 Tropfen; bei Verwendung konzentrierterer Jodlösungen ist er selbstverständlich noch schärfer.

Der Umschlag ist selbst bei Verwendung von $^{n}/_{100}$-Jodlösung besser als bei meiner früheren Methode und dürfte überhaupt zufriedenstellend sein. Nichtsdestoweniger wäre das Verfahren noch eleganter, wenn man eine farblose Lösung verwenden könnte. Ich habe auch recht viel Mühe darauf verwandt, um dies zu erzielen, leider aber ohne Erfolg. Am besten hat sich Eisenoxyd in Carbonat-Bicarbonatlösung bewährt. Das Oxyd wird vom Zucker reduziert und das Oxydul auch durch Jod oxydiert. Doch geht diese Oxydation im Gegensatz zum Kupferoxydul nur langsam vor sich, und das Verfahren ist für die Titration ungeeignet. Ich habe weiter eine große Menge organischer Substanzen zu diesem Zwecke untersucht, aber auch ohne Erfolg. Die Dithiosäuren waren insofern brauchbar, als sie nach Abgabe von Sauerstoff zu den entsprechenden Sulfhydrylverbindungen reduziert werden, und diese wieder durch Jod zu Dithioverbindungen regeneriert werden. Leider werden aber diese

Körper zum Teil beim Kochen mit Carbonaten allein zerstört und sind also ungeeignet. Vielleicht sind die aromatischen Dithiosäuren besser brauchbar, da das Schwefelatom an den Kern fester gebunden ist. Solche Körper sind mir nicht zugänglich gewesen.

Wenn man aber nur höchstens 10 mg Zucker nach diesem Verfahren bestimmen kann, während man nach der früheren Methode die 6 fache Menge bestimmt, fragt es sich, ob das Verfahren ebenso genau sein kann wie dieses. Es ist klar, daß die neue Methode eventuell eine 6 mal größere Verdünnung der Zuckerlösung erfordert, und also wird der Versuchsfehler auch 6 mal multipliziert. Wenn das neue Verfahren betreffs Genauigkeit mit dem älteren konkurrieren soll, so muß der Versuchsfehler 6 mal kleiner sein. Bei der älteren Methode entsprechen 50 ccm Hydroxylaminlösung 60 mg Zucker oder durchschnittlich kommt 1 mg Zucker auf 1 ccm Titrierflüssigkeit. Da nun die Jodometrie an sich unsere eleganteste und feinste Titriermethode darstellt, dürfte sie a priori überlegen sein, wie es tatsächlich auch der Fall ist. Bei der neuen Methode entsprechen 26,5 ccm $^{n}/_{100}$-Jodlösung 10 mg Zucker oder durchschnittlich 2,67 ccm Jodlösung auf 1 mg Zucker. Setzt man voraus, daß man gleich scharf mit beiden Titrierflüssigkeiten titrieren kann, so wird schon die Differenz z. T. ausgeglichen, indem von der Jodlösung pro Milligramm Zucker etwa 3 mal soviel verbraucht wird. Hierzu kommt der Umstand, daß der Umschlagspunkt bei Verwendung von $^{n}/_{100}$-Jodlösung viel schärfer ist als bei der Hydroxylaminlösung, was besonders bei der Harnzuckerbestimmung wertvoll ist. Hier interferiert eine milchige Grünfärbung, die auf die Bestimmung des Umschlagspunktes durch Hydroxylamin recht störend wirkt. In diesem Falle kann man den Endpunkt nur auf ca. $^{1}/_{2}$ ccm oder ca. $^{1}/_{2}$ mg bis 1 mg schätzen. Ähnliche Störungen kommen bei Verwendung von Jod nicht vor: Man kann eine gefärbte Flüssigkeit ebenso scharf wie eine reine Zuckerlösung titrieren, d. h. auf 0,1 mg oder 0,25 ccm.

Weiter muß es genauer sein, nur das reduzierte Kupferoxyd zu bestimmen. Man ist von den Messungsfehlern der Kupferlösung unabhängig, ebenso wie von dem Titer derselben Lösung (innerhalb gewisser Grenzen).

Hierzu kommt noch etwas Wesentliches. Während man die mit Zuckerlösung gekochte Kupferlösung vor der Titra-

tion abkühlt, kann das Oxydul z. T. wieder von der Luft oxydiert werden, was man bei der älteren Methode reichlich Gelegenheit hat zu konstatieren: Beim Stehen wird die farblose reduzierte Lösung wieder blau. Angenommen, daß diese Oxydation nur langsam vor sich geht, so kommt sie doch als Fehlerquelle, besonders bei den größeren Zuckermengen, vor, und zwar als eine variable Fehlerquelle. Die Fehlerquelle fällt bei der neuen Methode fort, nicht aus dem Grunde, daß das Kupferchlorür in Lösung weniger oxydiert wird als das Kupferrhodanür, im Gegenteil wird das viel mehr dissoziierte Chlorür viel stärker und viel schneller oxydiert als das beständige Rhodanür, — sondern aus dem Grunde, daß jetzt entsprechende Maßregeln zur Verhütung der Oxydation während der Abkühlung eingeführt worden sind. Da nun die Luftoxydation nur in der Hitze nennenswert erfolgt, so stellt die neue Titriermethode ein Präzisionsverfahren dar, das sogar recht hohen Ansprüchen gerecht werden kann.

Ausführung der Zuckerbestimmung.

Man benutzt ein Jenakölbchen von 100 ccm Inhalt mit geradem Halse ohne aufgelegten Rand. Die Zuckerlösung — je nach der Konzentration 0,1 ccm bis 2 ccm oder mehr — und später die Kupferlösung (55 ccm) werden in das Kochkölbchen eingeführt (55 ccm Kupferlösung entsprechen bei vollständiger Entfärbung 10 mg Zucker. Die Kupferlösung wird mittels einer 55 ccm Vollpipette übergeführt). Jetzt zieht man einen Gummischlauch von 4 bis 5 cm Länge über den Kolbenhals, bis etwa 2 ccm des Schlauches übrigbleiben. Der Gummischlauch muß recht eng ansitzen, er ist etwa 3 mm dick und aus gutem Gummi. Man kocht 3 Minuten, setzt aber, wenn noch einige Sekunden fehlen, einen stark federnden Quetschhahn nach Mohr über den Schlauch, klemmt nach vollen 3 Minuten zu und nimmt augenblicklich das Kölbchen durch einen schon befestigten Kolbenhalter von der Flamme weg, kühlt unter dem Wasserhahn bis Zimmertemperatur ab, nimmt den Gummischlauch ab, setzt $^1/_2$ bis 1 ccm der Stärkelösung hinzu (1 g lösliche Stärke in 100 ccm gesättigter KCl-Lösung gelöst, die Lösung ist unbegrenzt haltbar) und titriert mit der Jodlösung, bis Umschlag zu Tiefblau. Anfangs wird das Jod momentan verbraucht. Man

läßt demgemäß anfangs die Jodlösung im Strahl aus der Bürette (mit Glashahn!) ausfließen. Aus der Schnelligkeit der Entfärbung der Lösung nach dem Kochen kann man beurteilen, wieviel von der Jodlösung man ruhig auf einmal zusetzen kann. Wenn die Jodstärkefärbung erscheint, muß man das Kölbchen einmal leise umschütteln und ruhig einige Augenblicke abwarten. In der Nähe des Umschlagspunktes persistiert die Jodstärkefärbung 2 bis 3 Sekunden, geht aber dann zurück. Man setzt so lange Jodlösung hinzu, daß die Färbe mindestens 5 bis 10 Sekunden persistiert. Bei reinen Zuckerlösungen geht die Farbe erst später, nach $^1/_2$ bis 1 Minute, zurück, beim Harn aber schneller. Es ist, wie bemerkt, keine Schwierigkeit zwischen der Jodstärkefärbung und der Kupferfärbung, die selbstverständlich bei der Oxydation mit Jod an Intensität zunimmt, zu unterscheiden. Der wesentliche Punkt bei der Zuckerbestimmung ist die Verhinderung der Luftoxydation. Während des Kochens wird die Luft von dem Wasserdampf verdrängt. Verhindert man den Zutritt der Luft beim Abkühlen, so kommt keine Oxydation vor, und nach vollständiger Abkühlung der Flüssigkeit geht die Oxydation nur langsam fort. Schüttelt man bei der Titration nur ganz leise, um das Jod zu verteilen, so spielt die Oxydation, wie unten bewiesen wird, keine Rolle.

Außer dem oben mitgeteilten Verfahren zur Verhinderung der Luftoxydation hat sich folgende Einrichtung bestens bewährt: Nach Befestigung des Gummischlauches bringt man einen besonders dafür konstruierten Apparat an, wie die nebenstehende Illustration (Fig. 1) zeigt. Der Apparat besteht aus einem auf dem Kolbenhals zu befestigenden Metallbügel, der oben einen Keil (*a*) enthält. Nach beendigtem Kochen kneift man einen Moment den Bügel von den zwei Korkplatten (*b*) zu, der Keil springt dann gleich herunter und der Gummischlauch schließt luftdicht. Die Korkplatten dienen außerdem

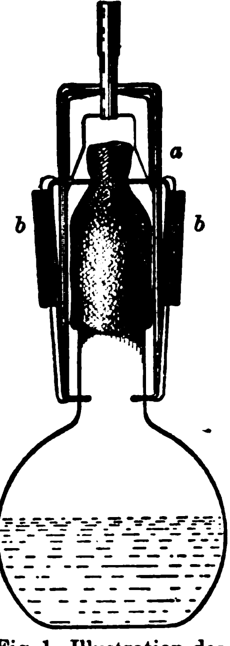


Fig. 1. Illustration des Kochkolbens mit Einrichtung usw.

als Halter bei der Abkühlung. Nach der Abkühlung hebt man den Keil wieder, indem man zugleich bei *b* zukneift. Der Apparat wird mit einem Griff befestigt und ebenso leicht entfernt. Der Apparat kann zu dem Preise von 2,40 M. von Herrn Mechaniker Hill, Lund, bezogen werden.

Schließlich ist daran zu erinnern, daß die Intensität des Kochens von Bedeutung ist. Man benutzt eine Flammenhöhe, die im Verlaufe von etwa $3^1/_2$ bis $3^3/_4$ Minuten die Kupferlösung zum Kochen bringt. Eine Siedepunktverzögerung findet nicht statt. Wegen des verminderten Luftdruckes setzt sich das Kochen auch bei der Abkühlung eine Zeit fort. Hält der Schlauch dicht, so kocht die Flüssigkeit, wenn man das Kölbchen ruhig hält, mindestens $^1/_2$ Minute fort.

Die Reduktionstabellen.

Reduktionstabellen sind sowohl für $^n/_{100}$-, wie für $^n/_{25}$- und $^n/_{10}$-Jodlösung ausgearbeitet worden. Persönlich benutze ich immer $^n/_{100}$-Jodlösung, doch bieten die beiden — $^n/_{25}$- und $^n/_{10}$-Jodlösung — gewisse Vorteile. Bei Verwendung von $^n/_{25}$-Jodlösung tritt der Umschlag auf einen Tropfen ein, bei $^n/_{100}$-Jodlösung braucht man 2 bis 4 Tropfen. Die Verwendung von $^n/_{10}$-Jodlösung ist aus dem Grunde bequem, daß diese Lösung vorrätig ist, was jedoch nicht viel besagt. Auf der anderen Seite ist eine $^n/_{10}$-Jodlösung ein viel energischeres Oxydationsmittel als $^n/_{100}$-Jodlösung, was besonders beim Harn von Bedeutung ist. Aceton usw. in bikarbonathaltiger Lösung wird nicht von $^n/_{100}$-Jodlösung, in minimalem Überschuß zugesetzt, oxydiert. Weiter ist bei Verwendung von $^n/_{100}$-Jodlösung ein geringer Überschuß von 3 bis 4 Tropfen ohne Belang. Für die meisten praktischen Bestimmungen ist der Betrag von $\pm$ 0,1 bis 0,2 mg Zucker gleichgültig. Und wenn sehr wenig Zucker vorliegt, schlägt die Farbe auch bei $^n/_{100}$-Jodlösung auf 1 bis 2 Tropfen um. Hier ist es unbedingt vorteilhafter, mit 1 bis 5 ccm Jodlösung statt 0,1 bis 0,5 ccm zu arbeiten.

Aus der Tabelle geht die bemerkenswerte Tatsache hervor, daß, abgesehen von den zwei letzten Werten, die Reduktion überall mit der Zuckermenge direkt proportional ist. Bei 10 mg Zucker wird alles Kupferoxyd verbraucht und die Flüssigkeit also ganz entfärbt. (Daß die Lösung nicht übertitriert ist, zeigt der Umstand, daß die Flüssigkeit noch nach

A. Jodlösung = n/100.

Dextrose mg	Serie Nr. 1 ccm	Serie Nr. 2 ccm	Serie Nr. 3 ccm	Serie Nr. 4 ccm	Serie Nr. 5 ccm	Durchschnitt ccm	Differenz der benachbarten Werte
1	2,65	2,60	2,65	2,60	2,60	**2,60**	2,60
2	5,30	5,25	5,25	5,20	5,25	**5,25**	2,65
3	8,05	8,05	8,15	8,10	8,05	**8,10**	2,85
4	10,70	10,90	10,85	10,70	10,90	**10,85**	2,75
5	13,40	13,65	13,65	13,40	13,65	**13,55**	2,70
6	16,00	16,20	16,35	16,30	16,30	**16,25**	2,70
7	18,85	18,90	18,75	18,90	18,80	**18,85**	2,60
8	21,20	21,65	21,35	21,25	21,50	**21,40**	2,55
9	23,60	23,70	23,70	23,50	23,50	**23,60**	2,20
10	25,70	26,65	25,55	25,60	25,75	**25,65**	2,05

dem Kochen 2 Minuten 45 Sek. schwach, aber deutlich blau ist. Außerdem wurde bei Verwendung von 9,75 mg Zucker

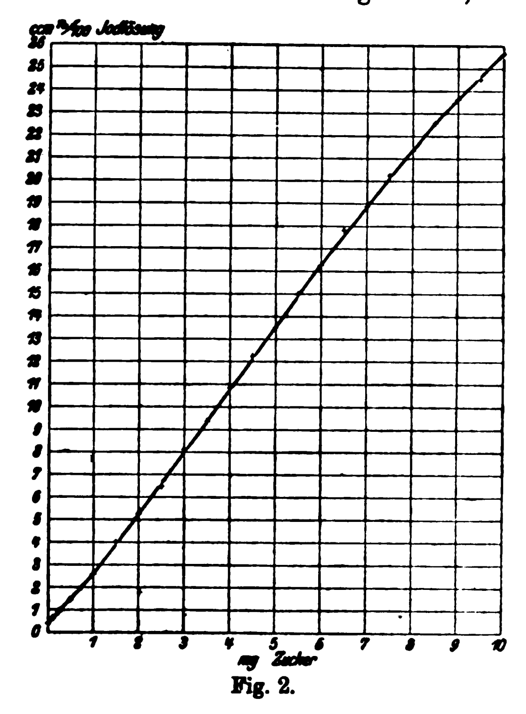


Fig. 2.

25,05 ccm Jodlösung verbraucht.) Man kann sich also bequem durch Verwendung von z. B. 2 ccm 0,5 % Zucker überzeugen, daß die Kupferlösung, Flammenhöhe und Zuckerlösung richtig sind, ebenso daß der Gummischlauch dicht hält. Die obenstehende Kurventafel zeigt die Proportionalität der Reduktion

sehr überzeugend. Hier sind ebenfalls die empirisch gefundenen Werte für 0,5 mg bis 9,5 mg Zucker angeführt worden, was auch die Genauigkeit der neuen Methode beweisen kann.

Für praktische Zwecke, wo es nicht auf sehr große Genauigkeit ankommt, ist deswegen eine Indextabelle überflüssig. Man braucht nur die gefundenen Jodwerte in Kubikzentimeter mit dem Faktor 2,70 zu dividieren. Bei Jodwerten von weniger als 24 ccm sind die Differenzen innerhalb der Fehlergrenzen.

Zucker mg	Gefundene Werte ccm	Aus dem Faktor 2,67 berechnete Werte ccm	Differenz ccm	Aus dem Faktor 2,68 berechnete Werte ccm	Differenz ccm	Aus dem Faktor 2,70 berechnete Werte ccm	Differenz ccm
1	2,60	2,67	+ 0,07	2,68	+ 0,08	2,70	+ 0,10
2	5,25	5,34	+ 0,09	5,36	+ 0,11	5,40	+ 0,15
3	8,10	8,01	− 0,09	8,04	− 0,06	8,10	± 0,00
4	10,85	10,68	− 0,17	10,72	− 0,13	10,80	− 0,05
5	13,55	13,35	− 0,20	13,40	− 0,15	13,50	− 0,05
6	16,25	16,02	− 0,23	16,08	− 0,17	16,20	− 0,05
7	18,85	18,69	− 0,16	18,76	− 0,09	18,90	− 0,05
8	21,40	21,36	− 0,04	21,44	+ 0,04	21,60	+ 0,20
9	23,60	24,03	+ 0,43	24,12	+ 0,52	24,30	+ 0,70
10	25,65	26,70	+ 1,05	26,80	+ 1,15	27,00	+ 1,35

Wenn man den Minderbetrag der Reduktion bei den höchsten Werten (9 bis 10 mg) erklären will, so sind zwei Möglichkeiten denkbar. Entweder ist die Reduktion an sich bei dem geringen Überschuß von Kupferoxyd ungenügend oder die Luftoxydation des Oxyduls macht sich bei der vollständigen Entfärbung mehr geltend. Die letzte Eventualität trifft tatsächlich zu, wie die Versuche mit Kohlensäuredurchleitung während der Titration erwiesen haben.

mg Zucker	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Die gefunden. J-Werte ohne CO_2-Zufuhr	2,60	5,25	8,10	10,85	13,55	16,25	18,85	21,40	23,60	25,65
Die gefunden. J-Werte mit CO_2-Zufuhr	2,60	5,40	8,00	11,30	13,80	16,50	19,85	22,00	24,30	26,10
	±0	+0,15	−0,10	+ 0,55	+0,25	+ 0,25	+ 1,00	+ 0,60	+ 0,70	+ 0,45

Man bemerkt hier, daß die Reduktion von 10 mg Zucker genau 10 mal größer ist als für 1 mg. Dagegen zeigt die Kurve keinen so regelmäßigen Verlauf wie ohne CO_2-Zufuhr. Bei den geringsten Zuckerwerten (1 bis 3 mg) ist der Unterschied zwischen

den beiden Reihen nur unbedeutend. Von 7 mg ab, wo man gerade ohne Kohlensäure eine geringe Verminderung der Proportionalität bemerken kann, macht sich der Unterschied stärker geltend. Absolut sind aber die Unterschiede so klein und die Werte ohne CO_2-Zufuhr so regelmäßig, daß die Verwendung der Kohlensäure keinen Vorteil, eher aber eine unnötige Komplikation der Methode bedeutet. Die Werte zeigen aber, wie unbedeutend die Luftoxydation ohne Benützung von CO_2 bei richtiger Ausführung der Titration ist.

Wie schon bemerkt, ist es nach dieser meiner Methode möglich, sogar sehr geringe Zuckermengen zu bestimmen, und man kann nach meiner schon großen Erfahrung ohne Übertreibung sagen, daß man um so exaktere Werte erhält, je kleiner die Zuckermenge ist. Dies geht auch aus der folgenden Tabelle hervor.

Ich schicke die Bemerkung voraus, daß die Kupferlösung an sich etwas, und zwar 0,4 ccm Jodlösung verbraucht, die von den Ziffern zu subtrahieren sind.

	Berechnet:	Gefunden (ohne CO_2-Zufuhr):			
1,00 mg	2,60 ccm	2,60 ccm			
0,75 „	2,05 „	1. 1,95 ccm,	2. 1,95 ccm,	3. 2,00 ccm,	4. 2,05 ccm
0,50 „	1,50 „	1. 1,45 „	2. 1,45 „	3. 1,40 „	4. 1,40 „
0,25 „	0,90 „	1. 0,90 „	2. 0,90 „		
0,10 „	0,60 „	1. 0,65 „	2. 0,65 „		

Man kann demnach mit großer Genauigkeit Zuckermengen von 0,1 mg bis zu 10 mg bestimmen. Aber noch mehr.

Wie anfangs bemerkt, wird dic Kupferlösung aus der Kupferstammlösung durch Verdünnung mit gesättigter Chlorkaliumlösung bereitet. Auf die zur Zuckerbestimmung verwendeten 55 ccm Kupferlösung kommen 16,5 ccm Kupferstammlösung und 38,5 ccm KCl-Lösung. Man kann folglich diese 16,5 ccm Kupferstammlösung mit 38,5 ccm einer sehr verdünnten Zuckerlösung unter Zusatz von 11 bis 11,5 g KCl in Substanz verdünnen. In diesen 38,5 ccm Zuckerlösung läßt sich also 0,1 mg Zucker bestimmen oder etwa 1:300000 Teil Zucker! Diese Tatsache hat nicht allein ein Kuriositätsinteresse, sondern eine gewisse praktische Bedeutung, was z. B. aus einer der folgenden Abhandlungen hervorgeht.

B. Jodlösung = $^n/_{25}$.

Untersuchungen mit und ohne Kohlensäurezufuhr während der Titration. Sie sind zusammen in der Tabelle angeführt.

Zucker mg	CO_2-Zufuhr Serie Nr. 1 ccm	Serie Nr. 2 ccm	Serie Nr. 3 ccm	Durchschnitt ccm	Keine CO_2-Zufuhr Serie Nr. 1 ccm	Serie Nr. 2 ccm	Durchschnitt ccm	Differenz der benachbarten Werte ccm	Nach dem Faktor 0,7 berechnete Werte
1	0,76	0,76	0,77	**0,76**	0,70	0,76	**0,73**	—	0,70
2	1,55	1,54	1,60	**1,55**	1,45	—	**1,45**	0,70	1,40
3	2,16	2,18	2,22	**2,19**	2,20	2,25	**2,20**	0,75	2,10
4	3,10	3,05	3,07	**3,07**	2,95	—	**2,95**	0,75	2,80
5	3,90	3,85	3,87	**3,87**	3,70	3,60	**3,65**	0,70	3,50
6	4,50	4,40	4,45	**4,45**	4,10	4,20	**4,15**	0,50	4,20
7	5,20	5,27	5,25	**5,24**	4,85	—	**4,85**	0,70	4,90
8	5,92	5,87	5,95	**5,92**	5,50	—	**5,50**	0,65	5,60
9	6,50	6,55	6,55	**6,54**	6,20	—	**6,20**	0,70	6,30
10	7,00	7,00	7,05	**7,02**	6,85	7,00	**6,95**	0,75	7,00

Hier zeigt sich besonders ohne Zufuhr von Kohlensäure eine so gut wie vollständige Proportionalität der Werte, sogar bis zu dem letzten Wert. Die Ursache ist wohl darin zu suchen, daß viel weniger Titrierflüssigkeit zur Verwendung kommt, die etwas absorbierte Luft enthält. Außerdem geht die Titration viel schneller.

Jodlösung = $^n/_{10}$ (ohne CO_2),

Zucker mg	Serie Nr. 1 ccm	Serie Nr. 2 ccm	Durchschnitt ccm	Differenz der benachbarten Werte ccm	Berechnet nach dem Faktor 0,285 ccm
1	0,30	0,30	**0,30**	—	0,29
2	0,60	0,57	**0,58**	0,28	0,57
3	0,88	0,85	**0,86**	0,28	0,85
4	1,14	1,17	**1,15**	0,29	1,14
5	1,48	1,45	**1,46**	0,31	1,43
6	1,74	1,73	**1,73**	0,27	1,71
7	2,00	2,02	**2,01**	0,28	2,00
8	2,34	2,32	**2,31**	0,30	2,28
9	2,50	2,52	**2,51**	0,20	2,57
10	2,80	2,81	**2,80**	0,29	2,85

Die $^n/_{10}$-Jodlösung gibt — allerdings bei Verwendung einer in $^1/_{50}$ ccm eingeteilten Bürette — gut übereinstimmende Werte. Untereinander stimmen auch die Serien mit $^n/_{100}$-, $^n/_{25}$- und $^n/_{10}$-Jodlösung gut überein. So sind die Werte mittels $^n/_{10}$-Jodlösung ungefähr 10 mal kleiner als nach $^n/_{100}$-Jodlösung, und der Divisionsfaktor ist in dem einen Falle 0,285, in dem andern 2,70. Zwischen beiden steht die $^n/_{25}$-Jodlösung mit dem Faktor 0,7 ($= 0{,}28 \times 2{,}5$).

Fragt man, inwieweit die neue Methode eine ebenso große Genauigkeit wie die alte zeigt, so können die Reduktionstabellen darüber unterrichten. Der durchschnittliche Versuchsfehler ist bei den größeren Zuckerwerten etwa **0,1** bis **0,2** mg Zucker (höchstens!), was bei Verwendung von ca. 10 mg Zucker 1 % bedeutet. Bei der alten Methode ist jedenfalls bei gefärbten Lösungen der Versuchsfehler etwa 0,5 ccm Hydroxylaminlösung oder $^1/_2$ bis 1 mg von 60 mg Zucker. Hier ist also der Versuchsfehler ebenso groß. Über die Größe des Versuchsfehlers können auch folgende Versuche unterrichten. Es wurde 3 mal ganz grob ca. 1 g Glucose abgewogen und in 100 ccm Wasser gelöst. Nach 24 stündigem Stehen wurden die Zuckerlösungen von mir teils titrimetrisch nach der neuen Methode bestimmt, teils von Docent af Klercker polarisiert.

	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
Titrimetrisch	1. 1,16 %, 2. 1,13 %	1,25 %	1,11 %
Polarimetrisch	1,15 %	1,22 %	1,14 %.

Nr. 1 und 2 wurden mittels $^n/_{100}$-, Nr. 3 mittels $^n/_{10}$-Jodlösung bestimmt. Es wurden überall 0,5 ccm Zuckerlösung zur Bestimmung verwendet.

Beim Vergleich der beiden Methoden hat sich herausgestellt:

1. Beide sind ungefähr gleich genau.

2. Doch ist der Umschlagspunkt bei der neuen schärfer und angenehmer als bei der alten Methode.

3. Es ist ein großer Vorteil, daß man bei der neuen Methode das reduzierte Kupferoxyd und nicht das übriggebliebene Kupferoxyd bestimmt.

4. Es ist prinzipiell richtiger, daß man die Luftoxydation während der Abkühlung ausschließt.

5. Die neue Kupferlösung ist bedeutend einfacher zu bereiten als die alte; die Bereitung geht auch schneller.

6. Die neue Lösung ist unbegrenzt haltbar.

7. Sie ist auch bedeutend billiger als die alte. Aus einer hiesigen Apotheke bezogen stellen sich die Preise: 5 l Kupferlösung nach der alten Methode 17,50 Kronen, nach der neuen 1,75 Kronen, also ein Zehntel des früheren Preises.

8. Als ein bedeutender Vorteil bei dem neuen Verfahren ist die Möglichkeit der Bestimmung außerordentlich kleiner Zuckermengen zu bezeichnen.

9. Es ist schließlich ein Vorteil der alten Methode gegenüber, daß die neue Kupferlösung in viel geringerem Grade von anderen Körpern als Zucker reduziert wird, was sich bei der Blut- und Harnzuckerbestimmung geltend macht. Die Ursache hierzu ist wohl in erster Linie der verschiedene Gehalt an Alkalicarbonaten (35 % bei der alten, 8 % bei der neuen Methode).

10. Es ist vorteilhafter, daß man bei der neuen Methode von der Farbe der Zuckerlösung unabhängig ist. Eine „Mischfärbung“ kommt hier nicht in Betracht.

Gegenüber diesen vielen unbestreitlichen Vorteilen kommen andererseits zwei Momente zugunsten der ursprünglichen Methode in Frage: 1. Die Zuckerlösung darf kein Eiweiß enthalten, was bei der alten Methode bis zu einem gewissen Grade gleichgültig ist. 2. Auch sonst darf die Zuckerlösung keine jodbindenden Stoffe enthalten, was besonders für die Zuckerbestimmung im Harn sehr wichtig ist, da bekanntlich der Harn neben dem Zucker gewöhnlich Aceton und Acetessigsäure enthält. Hierbei hat es sich aber herausgestellt, daß, abgesehen davon, daß das Aceton wohl vollständig beim Kochen entweicht, das Aceton überhaupt nicht in der carbonathaltigen Lösung von $^{n}/_{100}$-Jodlösung angegriffen wird. Dagegen enthält jeder Harn andere Stoffe, die Jod binden. Bei Zusatz von $^{n}/_{100}$-Jodlösung zum Harn wird zuerst das Jod momentan verbraucht, bei fortgesetztem Zusatz verschwindet die Jodstärkereaktion erst allmählich im Laufe von $^{1}/_{2}$ bis 2 Minuten. Der momentane Jodverbrauch ist unbedeutend, der langsame viel größer. Nun hat man Grund, anzunehmen,

daß die Stoffe, die energisch Jod verbrauchen, auch von dem Kupferoxyd oxydiert werden. Sie entsprechen mit andern Worten z. T. der normalen Harnreduktion. Sie kommen folglich bei der Jodtitration nicht in Betracht. Anders verhalten sich die übrigen jodbindenden Substanzen des Harns. Bei der Titration nach dem Kochen führt die Reaktion wie gewöhnlich zum Umschlagspunkt. Die blaue Jodstärkefarbe geht aber wieder zurück, und man kann nach und nach bei Verwendung von 2 ccm Harn bis zu 1 ccm Jodlösung und darüber zusetzen. Diese recht unangenehme Fehlerquelle läßt sich selbstverständlich dadurch ausschalten, daß man den Harn vorher mit Jod titriert. Dies umständliche Verfahren ist jedoch nicht nötig, wenn man bis zum Farbenumschlag titriert und von der langsamen, nachschleppenden Entfärbung abstrahiert. Man beobachtet, inwieweit die Jodstärkefärbung 10 bis 20 Sekunden persistiert. Ist dies der Fall, so wird die Titration als beendet angesehen. Diese Fehlerquelle kommt weiter bei zuckerreichem Harn weniger in Betracht, da hier der Harn verdünnt wird. Da man ferner mindestens ebenso genau eine geringe Zuckermenge bestimmen kann, empfiehlt es sich, überall nur 0,2 bis 0,3 ccm Harn zur Bestimmung zu verwenden. Einige Versuche können als Belege für die Brauchbarkeit der neuen Methode zur Harnzuckerbestimmung dienen.

Zuerst sei die normale Harnreduktion erwähnt. Bei der Untersuchung von 12 zuckerfreien Harnen verschiedener Zusammensetzung (einige sehr konzentriert) wurde nach der alten Methode eine Reduktion entsprechend 0,114 % bis 0,696 % Glucose, und bei der neuen von 0,09 % bis 0,476 % gefunden. Die durchschnittliche Reduktion war 0,234 % bei der alten und 0,186 % bei der neuen Methode, bei der neuen also 22 % weniger. Nach Entfärbung mit Blutkohle und Alhohol waren die Durchschnittswerte 0,125 % (alte Methode) und 0,067 % (neue Methode) oder ca. 50 % weniger bei der neuen. Da der Harn durchschnittlich 0,04 % Traubenzucker enthält, ist ersichtlich, daß so gut wie sämtliche übrigen reduzierenden Körper durch Behandlung mit Blutkohle entfernt worden sind, insoweit es die neue Methode betrifft. Ebenso liegen die Verhältnisse bei der Blutzuckerbestimmung.

Weiter möchte ich einige von Docent af Klercker ausgeführte Zuckerbestimmungen in Kaninchenharn[1]) als Belege anführen. Die Kaninchen waren mit Opium bzw. Adrenalin vergiftet.

Nr.	Titration, Harn verwendet ccm	$^n/_{100}$-Jodlösung-verbrauch ccm	Zucker %	Polarisation, Zucker %	Naphthoresorcinreaktion
1	0,45	8,40	0,70	0,57	stark positiv
2	0,90	6,80	0,28	0,28	do.
3	0,90	6,30	0,26	0,19	do.
4	0,90	8,10	0,33	0,36	
5	{0,09	3,45	1,44	1,90	
	{0,18	7,50	1,55	—	
6	{0,27	5,0	0,68	0,74	schwach positiv
	{0,45	9,1	0,74	—	
7	0,09	8,35	3,44	3,86	negativ
8	0,35	7,20	0,75	0,91	do.
9	{0,09	4,90	2,05	2,81	do.
	{0,18	11,20	2,27	—	

In den 6 Versuchen stimmen die Werte recht gut überein, in einem Versuch (Nr. 9) ist die Übereinstimmung schlecht, in den zwei übrigen leidlich. Es ist aber schwer zu sagen, inwieweit die Polarisation oder die Reduktion hier die richtigen Werte ergeben. Wenn aber die Reduktion überall die geringeren Werte zeigt, ist die Vermutung nicht unberechtigt, daß die Reduktionswerte die besseren sind.

Schließlich habe ich einige Werte an Diabetikerharn festgestellt. Die Harne enthielten Aceton und Acetessigsäure.

Nr. 1. 0,5 ccm Harn nach der alten Methode titriert = 8,08 % Zucker
0,1 " " " " neuen " " = 7,95 % "

Nr. 2. 0,5 ccm Harn nach der alten Methode titriert = 8,50 % Zucker
0,1 " " " " neuen " " = 8,00 % "

Außerdem haben meine Schüler bei vergleichender Untersuchung von Knapp, Fehling und der neuen Methode gute Übereinstimmung gefunden. In einem Versuch mit Diabetikerharn wurden gefunden: 1. nach Knapp 0,83 bis 0,88 %; 2, nach Fehling 0,85 bis 0,87 %; 3. nach Bang II 0,90 bis 0,89 %. In einem anderen Versuch: 1. nach Knapp 0,42 %, nach Fehling 0,42 %, nach Bang II 0,43 %. Aus sämtlichen Befunden bei der Titration des Harnes von meinen Mitarbeitern und mir glaube ich also, daß die Folgerung berechtigt ist: Die Eigenreduktion und der Jodverbrauch des Harnes spielt keine wesentliche Rolle. Man kann ruhig davon absehen. Auch macht derselbe keine Schwierigkeit bei der Titration, wenn man das oben Gesagte berücksichtigt.

[1]) Die Harne waren mit Blutkohle und Alkohol (10 %) entfärbt.

Ein Verfahren zur Mikrobestimmung von Blutbestandteilen.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 10. Januar 1913.)

Mit 4 Figuren im Text.

Die Fortschritte der Forschung sind von den Fortschritten der Methodik abhängig. Eine neue zweckmäßige Methodik öffnet die Wege zur Erforschung unbekannter oder unvollständig bekannter Bezirke, die für unser Gesamtwissen von entscheidender Bedeutung sein können.

So ist es z. B. der Fall mit dem Blute. Gewiß kennen wir sogar zahlreiche Methoden, die die Untersuchung des Blutes in verschiedenen Richtungen erlauben. Und bekanntlich sind unsere Kenntnisse über das Blut keineswegs gering. Trotzdem ist das Blut bis jetzt in einigen Beziehungen noch eine terra incognita.

Mit der Lymphe zusammen stellt das Blut die Intercellularflüssigkeit dar, durch die alle Stoffe zu und von den Zellen transportiert werden. Dank der neueren Forschung wissen wir weiter, daß die Korrespondenz zwischen den verschiedenen Zellkolonien nicht allein durch das Nervensystem, sondern auch durch das Blut geht, und zwar mittels der inneren Sekretionsprodukte. Man kann also sagen, daß das Leben der Zellen unter Wechselwirkung mit dem Blute abläuft. Die Zusammensetzung des Blutes kann augenscheinlich einen Anhaltspunkt hierfür geben. Die Stoffwechselprodukte der Zellen können die Zusammensetzung des Blutes ändern, und umgekehrt eine veränderte Zusammensetzung des Blutes kann das Zelleben umgestalten. Selbstverständlich hat

man schon versucht, durch eingehende Analysen des Blutes diesen Fragen näher zu treten, und man hat auch bedeutungsvolle Ergebnisse erzielt. Es ist aber klar, daß bei so schwierigen Verhältnissen, wie sie das Blut bietet, exakte Ergebnisse durch die vergleichende Untersuchung des Blutes von mehreren Versuchstieren sehr schwer zu erlangen sind. Die individuellen Unterschiede sind recht groß und die Veränderungen vielleicht recht gering. Es wäre demgemäß ein unzweifelhafter Vorteil, wenn man bei fortlaufender Untersuchung des Blutes an einem und demselben Versuchstier unter gegebenen Versuchsbedingungen die ev. Veränderungen des Blutes studieren könnte. Es steht aber hier der Umstand hindernd im Wege, daß die Blutuntersuchungen eine nicht geringe Blutmenge erfordern, die man nicht von dem Tier entnehmen kann, ohne daß der Blutverlust sich unangenehm geltend macht. Noch viel mehr summieren sich die Schwierigkeiten, wenn man mehrere Blutproben entnehmen muß. Man kann dann unmöglich mehr auf physiologische Verhältnisse folgern. Aber gerade solche Serienuntersuchungen dürften in vielen Beziehungen außerordentlich wertvoll sein, was näher auseinanderzusetzen überflüssig sein wird. Tatsache ist, daß solche Untersuchungen bis jetzt nur ausnahmsweise möglich sind.

Es ist auch klar, daß die einzige Möglichkeit, die hier zum Ziele führen kann, Mikromethoden darstellen müssen. Die bis jetzt einzigen brauchbaren Methoden zur Serienuntersuchung sind eben Mikromethoden: die Methoden der Hämoglobinbestimmung und der Blutkörperchenzählung. Könnte man Methoden zur Bestimmung von Blutbestandteilen ausfindig machen, die nicht mehr Blut erfordern, als man aus der Fingerkuppe oder der Randvene des Kaninchenohres entnehmen kann, so wäre hiermit die Möglichkeit eines ungeahnten Eindringens in die feineren Vorgänge des Blutes und der Zellen gegeben, dessen Konsequenzen a priori unübersehbar sind. Die Aufgabe ist folglich so wichtig, daß sie unzweifelhaft eine Bearbeitung verdient. Bekanntlich fehlt es auch nicht an Versuchen, aber der Erfolg war stets negativ.

In dem folgenden soll ein neues Verfahren mitgeteilt werden, das vielleicht ermöglicht, die Bestimmung der meisten Blutbestandteile vorzunehmen, und durch das es schon ge-

lungen ist, einfache, aber zuverlässige Mikromethoden zur Bestimmung des Blutzuckers und des Kochsalzes auszuarbeiten, wozu allerdings die Auffindung entsprechender Titrationsmethoden für den gegebenen Fall notwendig war. Zuerst soll das allgemeine Verfahren besprochen werden, zweitens die Mikromethode zur Blutzuckerbestimmung, drittens die Mikromethode zur Blutchlorbestimmung, und schließlich die übrigen Methoden zur Bestimmung anderer Blutbestandteile, die noch nicht detailliert ausgearbeitet worden sind bzw. deren Bearbeitung noch nicht abgeschlossen ist.

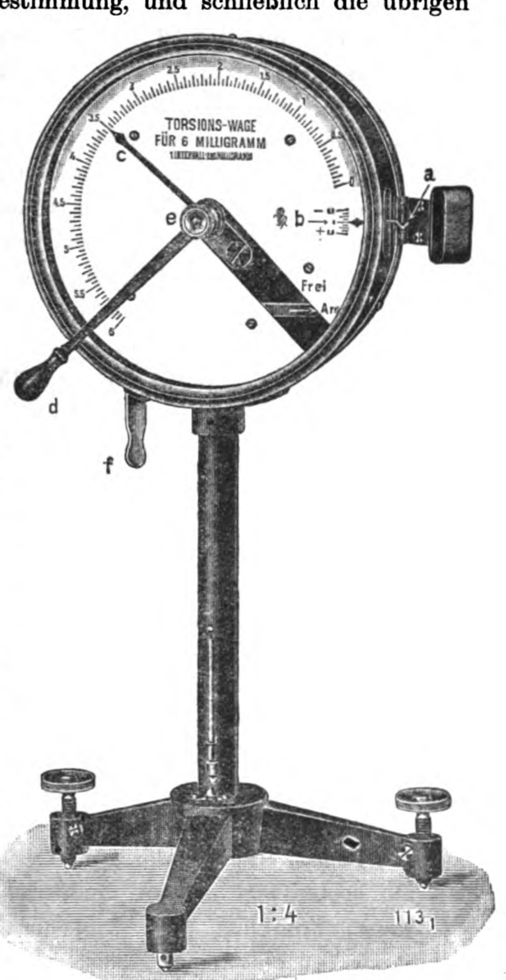


Fig. 1. Die Torsionswage nach Hartmann und Braun.

1. Das allgemeine Verfahren.

Das allgemeine Verfahren besteht darin, daß das Blut in ein kleines Stück Filtrierpapier aufgesaugt wird. Das Papierstückchen hat die Größe von etwa 12 × 25 mm und das Gewicht von etwa 100 mg. Das Papier wird vor und nach Aufsaugung des Blutes gewogen. Es ist vorteilhaft, die Wägung so bequem und schnell wie möglich ausführen zu können, besonders wenn man Serumuntersuchungen ausführen soll. Hier hat sich eine Torsionswage von Hartmann und

Braun vorzüglich bewährt[1]) (sie kostet M. 100). Man braucht hier nur einen Anzeiger bis zum Nullpunkt zu verschieben. Der Anzeiger läuft über eine Skala, die das Gewicht in Milligramm angibt. Von den verschiedenen Modellen ist die Wage für 600 mg hier die zweckmäßigste. Die Wage erlaubt eine Wägung in 2 bis 5 Sekunden. Bei dem Aufsaugen des Blutes, das aus der Fingerkuppe oder der Ohrvene in einer Menge von etwa **100** mg, d. h. **2** bis **3** Tropfen entnommen wird — man kann selbstverständlich auch etwas mehr Blut nehmen, doch ist dies durchaus überflüssig —, wird das Papier mittels einer kleinen Stahldrahtklemme von etwa 50 bis 100 mg Gewicht befestigt (vgl. Fig. 2). Es empfiehlt sich, die Wägung (und das Aufsaugen) des Blutes recht schnell auszuführen, um keine Wasserverluste zu erleiden. Allerdings geht die Verdampfung beim Blut so langsam vor sich, daß man sie bei nicht zu langsamer Arbeit vernachlässigen kann. Eine Probe wog unmittelbar nach der Blutaufsaugung **135** mg, **4** Minuten später **133** mg. Bruchteile von Milligrammen kommen bei den meisten Bestimmungen nicht in Betracht.

Fig. 2.

Das Papier muß ein gutes Aufsaugevermögen besitzen und ziemlich dick sein (etwa 1 mm). Das gewöhnliche Filtrierpapier — auch die dicksten Sorten von Schleicher & Schüll und anderen Fabrikanten — erfüllt nicht die notwendigen Ansprüche hierzu. Man muß deswegen gutes Löschpapier verwenden. (Nr. 264a der Firma „Finbruken", Stockholm, ist z. B. brauchbar.) Nun habe ich kein Papier im Handel gefunden, das nicht reduzierende Substanzen und auch Chlor abgibt. Es ist deshalb notwendig, das Papier zuerst mehrmals mit großen Quantitäten von mit Essigsäure angesäuertem heißen Wasser zu extrahieren, bis schließlich eine Blindanalyse seine Brauchbarkeit erweist. Das Papier wird schließlich getrocknet. Man hält am besten eine größere Quantität vorrätig.

Nach Tränkung mit Blut und Wägung führt man das Papier in ein reines, trockenes Proberöhrchen über und setzt eine gewisse Quantität saures, salzhaltiges, kochendes Wasser hinzu. Alles Eiweiß koaguliert dann auf und

[1]) Eine gut brauchbare, empfehlenswerte Wage liefern Warmbrunn & Quilitz zu M. 50. Sie ist nach dem Modell der Briefwage konstruiert.

in dem Papier, während die übrigen Stoffe des Blutes herausdiffundieren. Da nun das Papierstückchen etwa 100 mg Flüssigkeit aufzusaugen vermag, bleibt bei der folgenden Abgießung der Flüssigkeit nur 1 bis 2 $^0/_0$ in dem Papier zurück, welche Menge man bequem durch Zusatz einer kleinen Wassermenge von 3 bis 4 ccm „auswaschen" kann.

Nur Papier mit gutem Aufsaugevermögen hält alles Eiweiß zurück. Es ist weiter notwendig, dafür Sorge zu tragen, daß das Papier nicht vom Blut vollgesogen ist; es muß alles Blut eingesaugt werden; das Kriterium dafür ist, daß etwas Papier übriggeblieben ist. Weiter setzt man nicht unmittelbar nach der Wägung die heiße Salzlösung hinzu, sondern wartet am besten einige Minuten[1]) und läßt schließlich die heiße Lösung vorsichtig hineinfließen. Unterläßt man den Zusatz von Essigsäure oder von Salz zum Wasser oder setzt man nicht die Salzlösung kochend heiß zu, so koaguliert das Eiweiß nicht auf dem Papier, sondern geht z. T. in die Flüssigkeit über. Falls ein geringer Teil des Eiweißes in Lösung geht, ist die Analyse nicht verloren. Man braucht nur die Flüssigkeit durch ein kleines Filter (3 cm Durchmesser) zu filtrieren.

Die Salzlösung muß mit dem Papierstückchen so lange in Berührung sein, bis die Diffusion beendet ist. Im Verlaufe einer halben Stunde ist dies der Fall. Man gießt dann die Lösung ab, wäscht nach, und die Trennung der Extraktivstoffe und Salze von dem Eiweiß ist beendigt. In anderen speziellen Fällen wird das Eiweiß nicht koaguliert, sondern das Papier mit dem Blute in anderer Weise behandelt. Hierüber weiter unten.

2. Die Mikrobestimmung des Blutzuckers.

Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers wird das Papierstückchen wie oben behandelt. Nach Überführung in das Proberöhrchen setzt man 7 ccm einer mit 2 bis 3 Tropfen 40 $^0/_0$iger Essigsäure versetzten Kaliumchloridlösung kochend heiß hinzu und wartet $^1/_2$ Stunde ab. Jetzt führt man die Flüssigkeit in ein Jenakölbchen von 50 ccm Inhalt mit geradem Hals ohne aufgelegten Rand über, wäscht das Papier mit 4 ccm derselben KCl-Lösung aus und führt auch

[1]) Man kann bis 3 Stunden warten, ohne daß Glykolyse des Zuckers nachweisbar ist.

diese Lösung in das Kölbchen über. Die Kaliumchloridlösung wird aus 150 ccm gesättigter KCl-Lösung und 70 ccm Wasser bereitet. Schließlich setzt man 3 ccm der in der vorhergehenden Abhandlung erwähnten Kupferstammlösung hinzu. Diese Kupferstammlösung besteht aus 160 g $KHCO_3$, 100 g K_2CO_3, 66 g KCl und 100 ccm 4,4% $CuSO_4 + 5 H_2O$ in 1 l Wasser. Man zieht dann einen entsprechenden, gut schließenden Gummischlauch über, bringt einen ähnlichen wie in der vorhergehenden Abhandlung besprochenen Apparat an und kocht 2 Minuten über dem Drahtnetz, kühlt ab und titriert mit einer $^n/_{100}$-Jodlösung bis zum Farbenumschlag. 2 bis 3 Tropfen Stärkelösung als Indicator genügen.

Der Apparat zur Verhütung der Luftoxydation wird von Herrn Mechaniker Hill, Lund, bezogen (Modell für Mikrobestimmung). Man kann auch einen Quetschhahn verwenden. (Vgl. die vorgehende Abhandlung.)

Bei der Verwendung einer $^n/_{100}$-Jodlösung werden nur Bruchteile eines Kubikzentimeters verwendet. 100 mg Blut enthalten normal etwa 0,1 mg Zucker, was etwa 0,2 bis 0,3 ccm Jodlösung entspricht (die genaue Ziffer ist unten angegeben). Beim Diabetes 0,4 bis 0,5 ccm. Man muß folglich hier auf Hundertstel vom Kubikzentimeter titrieren. Dies darf nicht befremden. Bei den sonstigen Mikrotitrationen, z. B. bei Mikrokjeldahl, wird auf 0,002 bis 0,003 ccm titriert. Hier genügen 0,02 bis 0,03 ccm, die geringste Jodmenge, die den Farbenumschlag hervorruft. Man kann eine in 10 ccm geteilte Bürette mit fein ausgezogenem Glashahn, der eine Tropfengröße von 0,02 bis 0,03 ccm gibt, benutzen. Besser ist jedoch eine kleine Bürette von 2 ccm Inhalt, in $^1/_{50}$ ccm geteilt, zu verwenden. Diese besitzt einen Behälter, von dem die Bürette ohne Schwierigkeit gefüllt werden kann. Die Bezugsquelle der Bürette ist: Grave, Stockholm oder Jacob, glastekniske värksteder, Kopenhagen, die die Bürette nach meinen Anweisungen fabrizieren.

Im Gegensatz zu der Makrobestimmung des Zuckers macht sich die Luftoxydation bei der Mikromethode während der Titration sehr störend geltend. Zwar kann man bei vorsichtiger Arbeit auch hier ohne weiteres richtige Werte bekommen, und der Geübte braucht keine besonderen Maßregeln zur Verhütung dieser Fehlerquelle vorzunehmen. Angenehmer ist es jedoch, in aller

Ruhe die Titration ausführen zu können, ohne sich um dieselbe zu bekümmern. Das kann man auch leicht und bequem erzielen, wenn man die Luft während der Titration durch Kohlensäure ersetzt. Zu dem Zwecke befestigt man ein dünnes Zuleitungsröhrchen für Kohlensäure am Rande des Kölbchens; paßt dasselbe eng daran, so geniert es in keiner Weise bei der Titration. Das Zuleitungsröhrchen ist durch einen Gummischlauch mit dem Kohlensäureapparat (am besten eine kleine Kohlensäurebombe) verbunden.

Die Ergebnisse der Zuckerbestimmung an reinen Zuckerlösungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Angewandter Zucker	Verbrauch an $^n/_{10}$-Jodlösung						Durchschnitt	Verbrauch an Jodlösung für je 0,05 mg Zucker
	Serie Nr. 1	Serie Nr. 2	Serie Nr. 3	Serie Nr. 4	Serie Nr. 5	Serie Nr. 6		
mg	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
0,05	0,18	0,18	0,16	0,18	—	0,18	**0,18**	0,18
0,10	0,26	—	0,26	—	0,27	—	**0,26**	0,13
0,15	0,36	0,36	0,36	0,38	—	0,37	**0,36**	0,12
0,20	0,46	0,48	0,46	0,49	0,46	0,49	**0,47**	0,12
0,25	0,57	0,58	0,58	0,58	—	0,58	**0,58**	0,11
0,30	0,67	0,68	0,69	0,70	0,68	0,69	**0,69**	0,11
0,35	0,78	0,79	0,81	0,79	—	0,79	**0,80**	0,11
0,40	0,89	0,90	0,92	0,91	0,90	0,91	**0,91**	0,11
0,45	0,99	1,01	1,03	1,02	—	1,02	**1,02**	0,11
0,50	1,10	1,10	1,15	1,10	1,10	1,11	**1,12**	0,11
1,00	2,30	2,26	2,20	—	—	2,26	**2,25**	0,10
1,50	3,36	3,55	3,35	3,45	—	3,50	**3,40**	0,15
2,00	—	4,55	—	4,70	—	4,63	**4,63**	0,13

Der Vergleich der einzelnen Versuchsreihen zeigt gute Übereinstimmung der einander entsprechenden Werte; die Differenz erreicht nur einmal 0,04 ccm und beträgt im übrigen höchstens 0,02 ccm, d. h. **0,01** mg Zucker, wenn man nämlich die Werte bis 0,50 mg berücksichtigt. Und mehr als 0,5 °/₀ Zucker enthält das Blut nur äußerst selten. Ferner ist die Proportionalität zwischen angewandter Zuckermenge und verbrauchter Jodlösung bemerkenswert, denn — abgesehen von den beiden Anfangswerten — werden durchweg 0,11 ccm Jodlösung für 0,05 mg Zucker verbraucht. Keine andere Reduktionsmethode mit Ausnahme der Makromethode nach demselben Prinzip hat eine derartige Übereinstimmung aufzuweisen. Die Ursache der Inkongruenz der Anfangswerte ist leicht zu

erkennen: die Lösung verbraucht nämlich an sich etwas, wenn auch nur wenig Jod, und zwar **0,08** bis **0,10** ccm, die von dem Werte 0,18 ccm (für 0,05 mg Zucker) abzuziehen sind. Tatsächlich werden also hier nur 0,8 bis 0,10 ccm Jodlösung verbraucht, d. h. eine 0,036 bis 0,045 mg Zucker sonst entsprechende Menge oder etwas weniger als berechnet. Dies resultiert wahrscheinlich aus dem Grunde, daß die Lösung etwas Luft absorbiert enthält, die erst nach und nach infolge des Kochens entweichen kann und bis dahin oxydierend wirken muß. Tatsächlich findet man bei Verwendung einer größeren Flüssigkeitsmenge und einer entsprechend größeren Zuckermenge, d. h. bei der Makromethode, einen geringeren Jodverbrauch, wenn die Flüssigkeit vor dem Kochen mit Luft geschüttelt wird.

Ebenso wie bei der Makromethode erübrigt die Kongruenz des Kupferverbrauches den Gebrauch einer besonderen Indextabelle; es ist der Jodverbrauch (a:22) — 0,01 = dem gesuchten Zucker in Milligramm.

Die Anfangswerte 0,05 bis 0,10 mg Zucker bilden die einzige Ausnahme.

Bei der Titration kommen noch folgende Umstände in Betracht:

1. Die Intensität des Erhitzens. (Die Flammenhöhe.) Die folgenden Versuche können darüber orientieren. Angewendet überall 0,4 mg Zucker. Zeit bis zum beginnenden Kochen 1′55″, gefunden 0,85 ccm Jodlösung = **0,37** mg; 1′25″: 0,91 ccm J = **0,40** mg; 1′10″: 0,92 ccm J = **0,405** mg; 50″: 1,00 ccm J = **0,45** mg. Hiernach sollen 1′10″ bis 1′25″ vergehen, bis das Kochen beginnt.[1]) Von da aus sind dann die weiteren 2 Minuten Kochdauer zu rechnen. Dem entspricht eine kleine Flamme und ein ruhiges Kochen. Nach beendigtem Kochen und Abkühlen darf kein Salz auskrystallisieren. Bei Verwendung von einem höheren Salzgehalt ist es sehr schwierig, gleichmäßige Werte zu erhalten. Ein geringer Unterschied der Flammenhöhe macht sich schon geltend. Außerdem ist schon die variable Intensität des Kochens bei dem oft variierenden Gasdruck ein Faktor, der verbesserungsfähig ist. Elektrische Erhitzung wäre entschieden vorzuziehen.

---

[1]) Benützt man ein Bunsenventil (vgl. mein Buch über Blutzucker), so ist es des Überdruckes wegen notwendig, diese Zeit bis zum Anfang des Kochens etwas länger zu bemessen, nämlich 1′40″ bis 1′50″.

2. Die Kochdauer. Eine solche von 5 Sekunden mehr oder weniger ist ohne wesentlichen Einfluß, wie die Versuche zeigten. Kochdauer 1′ 50″: 0,82 ccm J = **0,36** mg statt 0,40 mg; 1′ 55″: 0,92 ccm J = **0,4** mg; 2′ 05″: 0,95 ccm J = **0,42** mg; 2′ 10″: 0,96 ccm J = **0,425** mg.

3. Die Luftoxydation. Daß tatsächlich die abgekühlte Lösung durch die Luft oxydiert wird, zeigen folgende Versuche. Sofort titriert: 0,92 ccm J = **0,405** mg; nach dem Stehen während 5′: 0,83 ccm J = **0,365** mg; nach 10′: 0,77 ccm J = **0,335** mg. Hier standen die Proben die ganze Zeit ruhig. Beim Schütteln erhält man nach einigen Sekunden 20 bis 30% Zucker zu wenig je nach der Intensität des Schüttelns. Die Oxydation der heißen Lösung ohne Gummischlauchverschluß ist viel größer. Statt 0,91 ccm J wurden z. B. in einem Versuch 0,56 ccm J gefunden.

4. Anstatt $^n/_{100}$-Jodlösung kann man auch $^n/_{200}$-Jodlösung verwenden. Der Umschlag tritt hier erst bei 0,05 ccm ein. Man braucht hier keine Mikrobürette. Die Ergebnisse sind ebenso gut wie bei $^n/_{100}$-Jodlösung.

Zucker mg	Serie Nr. 1 ccm	Serie Nr. 2 ccm	Serie Nr. 3 ccm	Serie Nr. 4 ccm	Serie Nr. 5 ccm	Durchschnitt ccm	Nach den Ergebnissen bei $^n/_{100}$-Jodlösg. berechnet ccm
0,1	0,52	0,55	0,60	0,55	0,55	**0,55**	0,52
0,2	0,94	0,94	0,95	0,90	0,95	**0,94**	0,92
0,3	1,38	1,37	1,40	1,36	1,35	**1,37**	1,38
0,4	1,82	1,77	1,90	1,79	1,80	**1,81**	1,82
0,5	2,24	2,18	—	2,30	2,20	**2,23**	2,24

In der Praxis hat aber die $^n/_{100}$-Jodlösung sich so gut bewährt, daß die $^n/_{200}$-Jodlösung jedenfalls in hiesigem Institut diese nicht hat verdrängen können.

5. Man konnte sich vorstellen, daß es wünschenswert wäre, eine stärkere Reduktion pro Dezimilligramm Zucker zu erzielen. Dies ist auch nicht schwer zu bewerkstelligen. Man braucht nur die Kochzeit etwas länger — 3 Minuten — auszudehnen. Wegen der Verdampfung muß man dann außer **11** ccm Kaliumchloridlösung auch 1 ccm H_2O zusetzen. In diesem Falle hat man also dieselbe Kochzeit wie bei der Makromethode. Es ist dann

von Interesse nachzusehen, wie sich die Bestimmung von 0,1 bis 0,5 mg Zucker mittels $^{n}/_{100}$-Jodlösung gegenüber der Bestimmung von 1,0 bis 5,0 mg Zucker durch $^{n}/_{10}$-Jodlösung verhält.

Zucker	Makromethode $^{n}/_{100}$-Jodlösung 0,1 bis 0,5 mg						Durchschnitt	Makromethode $^{n}/_{10}$-Jodlsg., 1 bis 5 mg Zucker
	Serie Nr. 1	Serie Nr. 2	Serie Nr. 3	Serie Nr. 4	Serie Nr. 5	Serie Nr. 6		
mg	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
0,05	0,19	0,19	0,18	0,18	0,17	0,18	**0,18**	—
0,10	0,29	0,31	0,31	0,29	0,28	0,29	**0,29**	0,30
0,20	0,56	0,58	0,58	0,56	0,54	0,58	**0,57**	0,59
0,30	0,86	0,85	0,87	0,87	0,87	0,84	**0,86**	0,87
0,40	1,12	1,11	1,10	1,10	1,15	1,12	**1,12**	1,15
0,50	1,37	1,41	—	—	1,41	1,36	**1,40**	1,43

Zuerst ist interessant zu bemerken, daß die Übereinstimmung zwischen dem Dezimilligramm Zucker: $^{n}/_{100}$-Jod und dem Milligramm: $^{n}/_{10}$-Jod eine vollständige ist. Man titriert ebenso scharf auf Bruchteile von Milligramm wie auf Milligramm Zucker.

Weiter ist ersichtlich, daß die Reduktion pro 0,10 mg Zucker hier etwas größer ist als bei einer Kochdauer von 2 Minuten, was vielleicht einen Vorteil bedeutet:

	0,05 mg	0,10 mg	0,20 mg	0,30 mg	0,40 mg	0,50 mg
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
Kochdauer 2 Min. .	0,18	0,26	0,47	0,69	0,91	1,12
„ 3 „ .	0,18	0,29	0,57	0,86	1,12	1,40

Der Unterschied ist jedoch nicht sehr groß und sogar für die bei der Blutzuckerbestimmung am häufigsten vorkommenden Werte höchst unbedeutend. Meine recht zahlreichen Schüler haben auch einstimmig die Kochdauer von 2 Minuten vorgezogen. Tatsächlich sind auch hier die Befunde so gut, daß kaum etwas zu wünschen übrig bleibt. Es verdient sogar die Frage eine Berücksichtigung, inwieweit nicht die Mikromethode auch für die Harnzuckerbestimmung vorzuziehen wäre. Jedenfalls ist sie ebenso genau wie die Makromethode und nimmt weniger Zeit in Anspruch. Allerdings erfordert sie auch eine subtilere Arbeit.

6. Da für praktische Zwecke nur die Werte bis zu 0,5 bis 0,6 mg Zucker zur Verwendung kommen, fragt es sich, inwieweit es von Vorteil wäre, die Kupfermenge noch weiter einzuschränken. Dies ist selbstverständlich gut möglich und bietet

den Vorteil, daß der Umschlag bei einer noch weniger blauen Flüssigkeit stärker hervortritt. Solche Versuche sind auch gemacht worden. Tatsächlich ist aber der Umschlag schon so gut, daß keine Verbesserung mehr notwendig ist. Man titriert schon jetzt scharf auf 0,02 bis 0,03 ccm. Ein Zweifel hierüber kommt nicht vor. Man erzielt bei Verminderung des Kupfergehaltes keinen Vorteil.

7. Die Jodlösung wird am besten aus Jodat-Jodid bereitet, wie in der vorherstehenden Abhandlung beschrieben worden ist. Man führt in einen 100-ccm-Meßkolben ca. 2 ccm 2 $^0/_0$ige Kalium-Jodatlösung, etwa 2 g Jodkalium und 10 ccm $^n/_{10}$-HCl ein und verdünnt bis zur Marke. Wichtig ist, daß man nicht zu wenig oder zu viel Jodkalium zusetzt. Verwendet man keinen oder zu großen Überschuß (1 g bzw. 4 g JK), so wird der Titer unrichtig (vgl. Treadwell, Analytische Chemie).

8. Es bleibt noch übrig, die Leistungsfähigkeit der Methode für die Blutzuckerbestimmung zu zeigen.

Diese soll zuerst für reine Zuckerlösungen[1]) erwiesen werden. I. 0,100 ccm einer Zuckerlösung entsprachen 0,34 ccm Jodlösung = **0,14** mg Zucker. Zwei Proben von je 0,100 ccm wurden in Filtrierpapier eingesaugt und dies mit 7 ccm heißer KCl-Lösung versetzt. Nach 5 Min. wurde Probe Nr. 1 verarbeitet. Gefunden 0,32 ccm J = **0,13** mg. Nach 10 Min. Probe Nr. 2. Gefunden 0,34 ccm = **0,14** mg. II. 0,2 ccm einer 0,05 $^0/_0$igen Zuckerlösung (= 0,10 mg Zucker) verbrauchten 0,27 ccm Jod. 0,2 ccm auf Filtrierpapier aufgesaugt und nach 5 Min. verarbeitet = 0,26 ccm J. Eine andere Probe nach 10 Min. verarbeitet = 0,27 ccm J.

Der Zucker diffundiert also schnell heraus. Beim Blute liegen aber die Verhältnisse etwas anders, weil das koagulierte Eiweiß die Schnelligkeit der Diffusion etwas beeinträchtigt.

I. 100 ccm Rinderblut wurden mit 0,1 g Glucose versetzt. In 20 ccm wurde der Zucker nach meiner alten Methode bestimmt. Gefunden = **0,175** $^0/_0$. 0,100 ccm wurden mit 3 ccm Kaliumchloridlösung aufgekocht und durch ein sehr kleines Filtrum filtriert; der Rückstand wurde weiter alles in allem mit 8 ccm Kaliumchloridlösung ausgezogen. Das Filtrat, mit 3 ccm Kupferlösung versetzt, ergab nach der Mikromethode 0,16 $^0/_0$ Zucker. Vier Proben von je 0,100 ccm wurden im Filtrierpapier aufgesaugt. Nr. 1 nach 1 Min. untersucht ergab **0,10** $^0/_0$; Nr. 2 nach 2 Min. = **0,12** $^0/_0$; Nr. 3 nach 5 Min. = **0,15** $^0/_0$ und Nr. 4 nach 10 Min. = **0,17** $^0/_0$.

II. 50 ccm Rinderblut wurden mit etwa 0,2 g Glucose versetzt. 0,100 ccm mit 7 ccm Chlorkaliumlösung aufgekocht, filtriert und mit

[1]) Zur Bereitung der Zuckerlösungen muß der Zucker erst bis zur Gewichtskonstanz bei 100° getrocknet werden.

4 ccm KCl-Lösung ausgewaschen, brauchten 0,88 ccm Jodlösung = **0,385** mg Zucker. 0,100 ccm auf Filtrierpapier aufgesaugt, nach 15 Min. verarbeitet = 0,82 ccm J = **0,36** mg; 0,100 ccm nach 15 Min., in welcher Zeit die Probe mehrmals geschüttelt wurde, verarbeitet = 0,88 ccm J = **0,385** mg.

III. 4 ccm Kaninchenblut wurden zu 96 ccm Wasser hinzugefügt und die Mischung nach Michaelis und Rona enteiweißt. 3 ccm Filtrat (= 98 mg Blut) mit 8 ccm gesättigter KCl-Lösung lieferten folgende Werte: **0,12 %**, **0,10 %**, **0,11 %**, **0,12 %** und **0,11 %**. (Eine sechste Probe ergab dagegen 0,18 %, wahrscheinlich liegt hier ein Abmessungsfehler vor.) 38,5 ccm Filtrat (= 966,4 mg Blut) + 11,5 KCl + 16,5 ccm Kupferlösung ergab nach der Makromethode **0,12 %**. Von demselben Kaninchen wurden 123 mg Blut auf Filtrierpapier aufgesaugt; es wurden 0,34 ccm Jodlösung = **0,114 %** gefunden.

IV. Vier Blutproben aus der Ohrvene eines Kaninchens auf Filtrierpapier aufgesaugt. Nr. 1 nach 10 Min. untersucht = **0,126 %** Zucker; Nr. 2 nach 15 Min. = **0,123 %**; Nr. 3 nach 30 Min. = **0,142 %** und Nr. 4 nach wiederholtem Durchschütteln nach 60 Min. = **0,138 %**.

V. Von einem Kaninchen wurden $^1/_4$stündlich Blutproben entnommen; a) 98 mg Blut: 0,24 ccm J = **0,09 %**; b) 99 mg Blut: 0,22 ccm J = **0,08 %**; c) 90 mg Blut: 0,21 ccm J = **0,08 %**; d) 1,20 mg Blut: 0,27 ccm J = **0,09 %**.

VI. Schließlich mögen die zwei auf den folgenden Kurventafeln angeführten Versuche an Kaninchen als Beispiel dienen. In dem einen Versuch (Fig. 3) sind durch Magensonde 100 ccm einer 3 %igen NaCl-Lösung

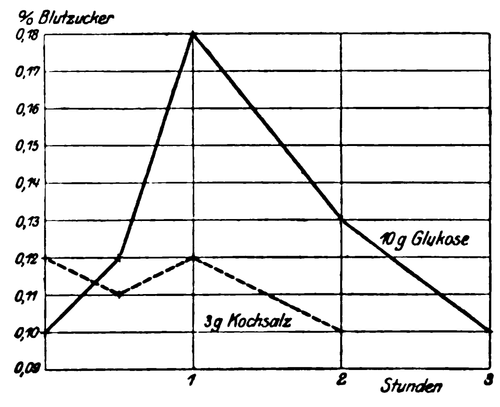


Fig. 3.

eingeführt worden. In den folgenden Stunden bleibt der Blutzuckergehalt unverändert. In dem zweiten Versuch wurden 100 ccm 10 %iger Traubenzucker eingeführt. Hier steigt der Blutzuckergehalt im Laufe von 1 Stunde, bleibt ein paar Stunden auf dem Höhepunkt stehen und sinkt wieder. Diese Versuche können ebenfalls als Beispiele für die

Bedeutung einer derartigen Mikromethode dienen. Die demnächst veröffentlichten Untersuchungen von meinen Mitarbeitern und Schülern mögen ebenfalls hierfür als Belege dienen.

2. Die Mikrobestimmung des Kochsalzes im Blute.

Das Blut enthält ca. 0,5 % NaCl. Trotzdem aber 5 mal so viel Kochsalz wie Zucker vorkommt, sind die Schwierigkeiten der exakten Bestimmung des Salzes viel größer als beim Zucker.

Erwünscht ist daher eine einfache, aber genaue Methode, die wie die Zuckerbestimmung nicht viel Zeit erfordert. Folglich kommen nur Titrationsmethoden in Betracht, und dann ausschließlich die Silbermethoden. Die Aufgaben müssen demnach darin bestehen: 1. Die Vorbereitung des Blutes für die Chlorbestimmung. 2. Dafür Sorge zu tragen, daß keine anderen Blutbestandteile die Reaktion beeinträchtigen. 3. Die Titration des Kochsalzes, das auf 0,01 bis 0,02 mg bestimmt werden muß.

1. Die Vorbereitung des Blutes muß darin bestehen, das Eiweiß von dem Salz zu trennen. Hierzu benutzt man das allgemeine Verfahren mit dem Unterschied, daß man statt der Chlorkaliumlösung eine 20 %ige Mangnesiumsulfatlösung benutzt.

2. Wie beim Harn enthält auch das Blut außer Kochsalz andere Körper, die von Silbernitrat niedergeschlagen werden, z. B. die Purine. Diese gehen auch in die Salzlösung über. Um ihre Mitfällung zu verhindern, benutzt man das nämliche Verfahren wie beim Harn nach Volhards Methode: Man versetzt die Magnesiumsulfatlösung mit einer 30 %igen Salpetersäure bis 5 % HNO_3. Ich habe mich überzeugt, daß beim Harn ein solcher Magnesiumsulfatgehalt die Fällung des Kochsalzes nicht beeinträchtigt.

3. Die Bestimmung des Kochsalzes macht Schwierigkeiten. Zwar kann man das Chlorsilber direkt durch Beurteilung der Opalescenz bestimmen, für die Praxis dürfte aber dies Verfahren ungeeignet sein.

Ich habe vergebens versucht, das Chlorsilber mittels einer Quecksilbernitratlösung bis zu verschwindender Opalescenz zu titrieren (Quecksilbernitrat löst Chlorsilber). Das Chlorsilber fordert aber verschiedene Mengen Quecksilber, je nachdem man

gleich titriert oder einige Minuten wartet. Eine gewichtsanalytische Bestimmung des Chlorsilbers ist nicht zweckmäßig.

Es war demgemäß notwendig, das Kochsalz mit einem Überschuß von Silbernitrat zu fällen, das Chlorsilber von dem überschüssigen Silbernitrat zu trennen und schließlich den Überschuß von Silbernitrat zu bestimmen. Nun bildet aber das Chlorsilber, wenn eine so geringe Menge wie hier in Betracht kommt (0,5 bis 1 mg auf 10 ccm), anfangs eine opalescierende kolloidale Lösung, die durch jedes Filter geht. Nach 24stündigem Stehen hat es sich als Niederschlag gut abgesetzt, und die Filtration bildet keine Schwierigkeit. Für reine Kochsalzlösungen ja, beim Blut kommt aber eine neue Fehlerquelle hinzu. Nach 24stündigem Stehen werden außer dem Chlorsilber trotz der Gegenwart von Salpetersäure noch andere Silberverbindungen niedergeschlagen. Gewiß ist ihre Menge gering, sie genügt aber, um etwa 10% Fehler zu verursachen. Filtriert man aber einige Minuten nach dem Zusatz des Silbernitrates, dann ist nur Chlorsilber ausgefallen.

Um nun die Filtration des kolloidalen Chlorsilbers möglich zu machen, kann man verschiedene Stoffe zusetzen, die das Chlorsilber mit niederreißen, z. B. Blutkohle, Rohrzuckerkohle oder Kieselgur. Diese — besonders die Blutkohle — bieten den Vorteil, daß sie die übrigen von Silber fällbaren Verbindungen niederschlagen. So ist es z. B. möglich, allein durch Schütteln des Blutes und des Harns mit Blutkohle ein Filtrat zu bekommen, in dem man das Kochsalz nach Mohr direkt bestimmen kann. (Ich habe durch meinen Schüler Herrn stud. med. Larsson mit Hilfe der Blutkohle eine expedite Methode der Chlorbestimmung für Harn und Blut ausarbeiten lassen.) Dagegen besitzen die genannten Körper eine andere unangenehme Eigenschaft: sie adsorbieren etwas Silber. Bei Verwendung von 2 ccm $^{n}/_{100}$-$AgNO_3$-Lösung adsorbieren eine konstante, recht kleine Menge Rohrzuckerkohle etwa 30%, Blutkohle etwa 10% und Kieselgur nur 5%. Um diese Schwierigkeit zu beseitigen, benutze ich eine konstante Menge Kieselgur, nämlich einen gestrichenen kleinen Löffel von ca. 0,10 ccm Inhalt. (Der kleine Doppellöffel aus Nickel, der überall käuflich ist, eignet sich besonders gut.) Die Silbernitratmenge, die Flüssigkeitsmenge und das Kieselgur sind also

immer konstant, und ebenso die Adsorption, die genau 0,10 ccm $^{n}/_{100}$-$AgNO_3$-Lösung beträgt. (Das Kieselgur muß ausgeglüht und mit essigsäurehaltigem Wasser ausgekocht sein.)

Im Filtrat des Chlorsilbers wird das überschüssige Silbernitrat titrimetrisch bestimmt. Hierzu sind die Methoden von Mohr und Volhard ganz ungeeignet. Die Methode muß das $^{n}/_{100}$-Sibernitrat auf 0,02 ccm bestimmen können. Voraussichtlich dürfte allein ein jodometrisches Verfahren in Betracht kommen. Von solchen hat die Methode von Pisani einen gewissen Ruf. Hier wird als Titrierflüssigkeit eine Lösung von Jodstärke verwendet. Die Pisanische Methode ist aber hier ganz ungeeignet. Erstens ist eine Jodstärkelösung nicht haltbar; für die Klinik kann man keine Methode empfehlen, wo die Titrierflüssigkeiten nicht haltbar sind. Hierzu kommt, daß eine $^{n}/_{100}$-Jodstärkelösung einen schlechten Umschlag gibt. Man muß von der Jodstärkelösung so lange zusetzen, bis die blaue Farbe nicht mehr verschwindet. Das tritt aber erst bei einem Überschuß von $^{1}/_{2}$ ccm ein, und die ganze Silberlösung ist nur 2 ccm!

Ich habe weiter versucht, die reine Jodlösung durch eine Lösung von Kaliumjodid-Jodat zu ersetzen. Da das Filtrat reichlich Salpetersäure enthält, wird bei passender Zusammensetzung die ganze Jodmenge als freies Jod ausgeschieden. Eine solche Lösung ist auch zur Not brauchbar, der Umschlag ist aber nicht gut. Man erhält schließlich eine schwach blaugrüne Färbung, die aber sehr schwer gegen das gelbe Jodsilber festzustellen ist. Hierzu kommt weiter die Unannehmlichkeit, daß eine Nachfärbung eintritt. Beim Stehen wird die Flüssigkeit immer mehr und mehr blau, und man kann nicht gut wissen, inwieweit nicht während der Titration ähnliche Änderungen eintreten können. Man muß immer dieselbe Zeit zur Titration benutzen. Die Ursache der Nachfärbung ist wahrscheinlich in Umlagerungen der Silberverbindungen zu suchen. Freies Jod reagiert mit Silber unter Bildung von Silberjodid und Silberjodat. Das letzte setzt sich nach und nach in Silberjodid und freies Jod um (wobei $AgNO_3$ zurückgebildet werden muß). Auch dies Verfahren ist also unbrauchbar.

Die folgende Methode führt zum Ziel. Setzt man zu

einer Mischung von Kaliumjodid und Kaliumjodat etwas Silbernitrat, dann reagiert das Silber zuerst mit dem Jodid und erst nachher, wenn kein Jodid mehr übrig ist, mit dem Jodat. Ebenso verhält sich das Silber gegenüber freiem Jod und Jodid. Infolgedessen kann man eine Jodidlösung, die mit sehr wenig Jod versetzt ist, sehr scharf mit Silber titrieren. Die Jodstärkereaktion bildet den Indicator. Die umgekehrte Reaktion: Titration einer Silberlösung mit einer solchen Jodidlösung geht viel weniger gut, indem der Farbenumschlag unscharf ist. Die Ursache hierfür ist auch leicht nachzuweisen. Die Jodstärkereaktion wird sehr durch die Gegenwart des Jodkaliums befördert. Ohne Jodkalium muß man bedeutend mehr Jod zusetzen, um die blaue Farbe zu erhalten, als bei Gegenwart von demselben (vgl. Treadwell, Analytische Chemie). Infolgedessen titriert man viel schärfer mit einer Silberlösung bis zu farblos, als umgekehrt eine Silberlösung mit einer Jodidlösung (selbstverständlich unter Zusatz von freiem Jod). Man kann auch im ersteren Falle die Reaktion bequem verfolgen, indem die ursprünglich ultramarinblaue Farbe während des Zusatzes von Silberlösung immer weniger intensiv blau wird. Schließlich schlägt die grünliche Farbe durch einen Tropfen Silberlösung in farblos um, wobei allerdings die gelbe Jodsilberfarbe mit einer blauen Nuance hervortritt. Es ist jedoch keine Schwierigkeit, den Endpunkt zu fixieren; falls dies für den Anfänger vorkommen sollte, ist es sehr einfach, einen Vergleich mit einer reinen Mischung von Jodsilber anzustellen.

Die Bestimmung des Kochsalzes im Blute gestaltet sich demnach folgendermaßen:

Nachdem etwa 100 mg Blut auf dem Filtrierpapierstückchen aufgesaugt und gewogen worden sind, wird es in das Proberöhrchen übergeführt. Nach einigen Minuten setzt man 10 ccm der salpetersauren Magnesiumsulfatlösung kochend heiß hinzu. Nach 30 Minuten (man kann auch die Probe tagelang stehen lassen) setzt man genau 2 ccm $^{n}/_{100}$ $AgNO_3$-Lösung hinzu, schüttelt leise und fügt weiter den gestrichenen Löffel Kieselgur hinzu. Man macht ein Filter (von 3 cm Durchmesser) und placiert den entsprechenden Trichter mit dem Filter über ein kleines Kölbchen von ca. 50 ccm Inhalt. Nach einigen Minuten

kann man mit der Filtration anfangen. Man fettet den Rand des Proberöhrchens gut ein, schüttelt heftig, bis das Kieselgur regelmäßig verteilt worden ist, und bringt die Flüssigkeit auf das Filter. Man hat hierbei zu beachten, daß soviel wie möglich von dem Kieselgur gleich auf das Filter kommt. Nur in diesem Falle geht das Filtrat ganz wasserklar ohne Opalescenz durch. Das Papierstückchen wird noch zwei mal mit 5 ccm Wasser ausgezogen, das auf das Filter kommt. Man beachte, daß alle ursprüngliche Flüssigkeit durch das Filter gegangen ist, ehe man mit dem Waschwasser zu filtrieren anfängt. Die Filtration nimmt etwa $^1/_2$ Stunde in Anspruch, wobei man jedoch eine ganze Serie von Proben filtrieren kann.

Nach beendigter Filtration setzt man 2 ccm von der Jodidlösung zu. Diese Jodidlösung wird aus 0,015 g Kaliumjodat und etwa 1,7 g Jodkalium bereitet. Man stellt sie nach dem Auffüllen auf 1 l Wasser genau auf die Silberlösung ein, indem man dieselbe mit 10 ccm der sauren Magnesiumsulfatlösung und 10 ccm Wasser versetzt. (Da das Jodkalium wasserhaltig ist und das Glühen nicht verträgt, ist es bequemer, die Jodkaliumlösung auf die Silberlösung einzustellen, als das Salz zu trocknen und abzuwägen.) Schließlich setzt man 3 bis 4 Tropfen einer Stärkelösung hinzu (1 g lösliche Stärke in 100 ccm 20$^0/_0$iger KNO_3-Lösung; diese Lösung ist haltbar). Inzwischen hat man die Mikrobürette mit $^n/_{100}$-Silberlösung bereit gestellt. Man titriert mit der Silberlösung bis zum Farbenumschlag. Es ist klar, daß die bei der Titration verbrauchte Silberlösung dem Verlust an Silber als Chlorsilber entspricht, wozu weiter das von dem Kieselgur adsorbierte Silber kommt. Von dem gefundenen Werte sind folglich 0,10 ccm Silberlösung zu subtrahieren. (Diese Quantität muß man selbst ein für allemal feststellen, indem man eine blinde Analyse ohne Kochsalz oder Blut ausführt.) Die gefundenen Kubikzentimeter Silberlösung, mit 0,585 multipliziert, entsprechen dem Kochsalz in Milligramm.

Als Belege können folgende Versuche dienen.

I. Zu einer Reihe von Proberöhrchen wurden verschiedene Mengen $^n/_{100}$-Kochsalzlösung gesetzt und nachher überall 10 ccm salpetersäurehaltige Magnesiumsulfatlösung. Nachdem das Chlorsilber während der folgenden 12 Stunden sich sedimentiert hatte, wurde filtriert und ausgewaschen. Bei der Titration wie oben wurden folgende Werte erhalten:

n/100-NaCl-Lösung zugesetzt	n/100-Silberlösung verbraucht a)	b)	Durchschnitt
ccm	ccm	ccm	ccm
0,50	0,50	0,52	0,51
0,60	0,60	0,62	0,61
0,70	0,74	0,75	0,74
0,80	0,84	0,81	0,82
0,90	0,94	0,95	0,94
1,00	0,99	1,03	1,02
1,10	1,10	1,13	1,12
1,20	1,19	1,23	1,21
1,30	1,36	1,33	1,34
1,40	1,41	1,42	1,42
1,50	1,50	1,50	1,50
1,60	1,58	1,59	1,59
1,70	1,74	1,72	1,73
1,80	1,80	1,80	1,80

Diese Versuche zeigen, daß man eine reine n/100-Kochsalzlösung mit großer Genauigkeit bestimmen kann. In zwei Versuchen ist die Übereinstimmung absolut, in vier ist die Differenz 0,01 ccm, in vier ist sie 0,02 ccm. In 10 von 14 Versuchen beträgt also die Differenz 0,02 ccm oder weniger, von den übrigen Versuchen zeigen drei 0,04 ccm und einer 0,03 ccm Differenz.

II. 7 Proben von je 1,00 ccm n/100-NaCl-Lösung wurden mit 2 ccm Silberlösung und Kieselgur versetzt. $MgSO_4$-Lösung usw. wie gewöhnlich. 5 Proben wurden sofort verarbeitet, 2 Proben nach 24stündigem Stehen (Nr. 6 und 7).

		Gefunden	Berechnet
Nr. 1	= 1,06 ccm $AgNO_3$ — 0,10 ccm (für Kieselgur) = 0,96 ccm	= 0,56 %	0,585 %
„ 2	= 1,05 „ „ — 0,10 „ „ „ = 0,95 „	= 0,56 „	0,585 „
„ 3	= 1,05 „ „ — 0,10 „ „ „ = 0,95 „	= 0,56 „	0,585 „
„ 4	= 1,07 „ „ — 0,10 „ „ „ = 0,97 „	= 0,57 „	0,585 „
„ 5	= 1,08 „ „ — 0,10 „ „ „ = 0,98 „	= 0,57 „	0,585 „
„ 6	= 1,06 „ „ — 0,10 „ „ „ = 0,96 „	= 0,56 „	0,585 „
„ 7	= 1,08 „ „ — 0,10 „ „ „ = 0,98 „	= 0,57 „	0,585 „

III. Es wurden in verschiedenen Proben von Rinderblut das Chlor nach der Makromethode bestimmt, teils mittels Kohle (welche Methode demnächst publiziert werden soll), teils durch Veraschung mit Soda und Salpeter, wobei schließlich das Chlor titrimetrisch nach Mohr bestimmt wurde. In anderen Proben wurde das Chlor nach der Mikromethode bestimmt. (Mit einer Ausnahme wurden die Mikrobestimmungen von dem Verfasser, die Makrobestimmungen von stud. med. Larsson ausgeführt. In den meisten Versuchen habe ich außerdem das Chlor durch Veraschung bestimmt.) Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Versuchs-Nr.	Makromethode %	Mikromethode %
1.	0,47	0,46
	0,45	0,46
	0,46	0,46

Versuchs-Nr.	Makromethode %	Mikromethode %
2.	0,47	0,49
	0,48	0,48
	0,48	—
3.	0,48	0,48
	0,48	0,49
4.	0,51	0,50
	0,52	0,52
	0,51	—
5.	0,44	0,43
	0,43	0,43
	—	0,40
	—	0,42
	—	0,45
6.	0,49	0,53
	0,49	0,50
	—	0,50
	—	0,49
7.	0,54	0,52
	—	0,53
	—	0,53

In 4 von den 7 Versuchen ist die Übereinstimmung absolut, in einem Versuch ist die größte Differenz 0,02 %, in den zwei letzten Versuchen (Nr. 5 und 6) ist die Differenz etwas größer, nämlich 0,03 % und 0,04 %. Diese waren die ersten, wo die Methodik noch etwas unsicher war.

IV. Schließlich wurden an ein und demselben Kaninchen teils 100 ccm 2 %ige Kochsalzlösung durch Sonde, teils 2 Tage später 100 ccm Wasser einverleibt. Die Ergebnisse gehen aus der Kurventafel (Fig. 4) hervor und brauchen keine nähere Erörterung.

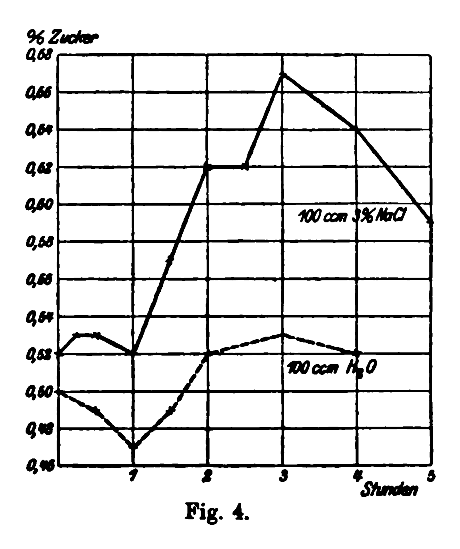


Fig. 4.

Ich glaube also erwiesen zu haben, daß die Mikromethode die notwendige Genauigkeit besitzt. Es dürfte auch ersichtlich sein, daß sie einfach und bequem ist. Daß sie zur Entscheidung vieler schwebender Fragen betreffs des Kochsalzstoffwechsels brauchbar ist, darüber können schon die Kaninchenversuche unterrichten. Solche Untersuchungen sind jetzt an

Patienten mit Infektionskrankheiten und Nephritis hier im Gange.

Schließlich mögen einige Analysen dafür als Belege dienen, daß Silbernitrat ohne Kieselgur zu hohe Werte geben kann: 1. Nach den Makromethoden gefunden: 0,51 %. Nach der gewöhnlichen Mikromethode 0,51 %; nach der Mikromethode ohne Kieselgur und nach dem Stehen von 16 Stunden filtriert: 0,59 und 0,58 %. 2. In einem anderen Versuch waren die Ziffern 0,48 %, 0,48 % und 0,55 % bzw. 0,54 %. Daß man nach dem Stehen mit Silbernitrat und Kieselgur ebenfalls etwas zu hohe Werte erhält, zeigen folgende Versuche: Nach einigen Minuten filtriert: 0,46 %, 0,46 %, 0,46 %. Nach 24stündigem Stehen filtriert: 0,48 %, 0,48 %, 0,48 %. Die Makromethoden ergaben 0,46 %.

4. Die Mikrobestimmung der übrigen Blutbestandteile.

A. Der Wassergehalt. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß man durch das neue Verfahren das Wasser bequem bestimmen kann. Das Papierstückchen wird vorher und nach dem Vollsaugen mit Blut bis zu konstantem Gewicht getrocknet. Da das Blut eine große Oberfläche besitzt, geht das Trocknen bei 100° rasch vonstatten.

B. Hämoglobin. Wenn man über eine Torsionswage verfügt, dürfte eine Hämoglobinbestimmung sehr schnell ausführbar sein. Man setzt nach der Wägung des Blutes die 100fache Wassermenge des Blutes hinzu. Nach beendigter Diffusion des Hämoglobins kann man die Lösung mit einer Hämoglobinlösung von bekanntem Gehalte vergleichen, oder nach Überführung in Hämatin, eine colorimetrische Untersuchung anstellen. Noch nicht publizierte Untersuchungen aus dem hiesigen Institut haben die notwendigen Bedingungen einer solchen Bestimmung festgestellt.

C. Gesamtstickstoff des Blutes. Das mit dem Blut getränkte Papierstückchen wird mit 1 bis 2 ccm Schwefelsäure unter Zusatz von Kupfersulfat und Kaliumsulfat verbrannt, was im Verlaufe von etwa 2 Stunden beendigt ist. Das gebildete Ammoniak — 2 bis 3 mg — wird in der Vorlage, die mit 3 ccm $^{n}/_{10}$-Salzsäure beschickt ist, aufgefangen. Nach der Destillation setzt man etwas Jodkalium und einige Tropfen Kaliumjodatlösung hinzu und titriert mit $^{n}/_{100}$-Thiosulfatlösung bis zur Entfärbung der Jodstärke.

D. Bestimmung des Extraktivstickstoffes. Das mit Blut getränkte Papier wird mit einer kochend heißen, an-

gesäuerten Kaliumchloridlösung extrahiert. Nach beendigter Diffusion wird das Papier mit dem koagulierten Eiweiß verbrannt. Durch Vergleich mit dem Gesamtstickstoff wird der Extraktiv-N gefunden. Er beträgt etwa 1 bis 2 ccm $^{n}/_{100}$-Thiosulfatlösung normal. Eingehendere Untersuchungen hierüber sind im Gange.

E. Bestimmung des Albumins und des Globulins. Zu dem mit Blut getränkten Papier setzt man 10 ccm gesättigte Magnesiumsulfatlösung. Das Globulin diffundiert heraus. Durch N-Analyse des Rückstandes wird der Globulin-N gefunden (wobei auch eine Gesamt-Eiweiß-N-Bestimmung erforderlich ist); kennt man den Hämoglobingehalt, so kann man den Albumingehalt berechnen.

Es ist auch denkbar, daß einzelne Extraktivstoffe, z. B. Harnstoff und Harnsäure (vgl. die neue colorimetrische Bestimmungsmethode der Harnsäure nach Folin), unter Umständen getrennt bestimmt werden können.

Das Verfahren ist also einer recht allgemeinen Verwendung fähig. Hoffentlich kann dadurch die chemische Blutuntersuchung eine beinahe ebenso geläufige — auch klinische — Verwendung finden, wie jetzt die Harnuntersuchung, was wohl einen großen Vorteil bedeuten dürfte.

Die Zuckerbildung der Froschleber.

I. Mitteilung.[1])

Von

Ivar Bang.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 10. Januar 1913.)

1. Einleitung.

Trotz der überwältigenden Menge von Arbeiten über die Zuckerbildung der Leber, die seit Cl. Bernard bis zum heutigen Tage niedergelegt worden ist, sind unsere Kenntnisse hierüber noch sehr lückenhaft. Schon betreffs der prinzipiell wichtigen Tatsache, inwieweit die Zuckerbildung einer diastatischen Wirkung entspricht, herrscht keineswegs Einverständnis.

Daß die postmortale Zuckerbildung aus Glykogen von einer Diastase verursacht wird, die in der toten Leber vorkommt und hieraus extrahiert werden kann, ist exakt bewiesen. Inwieweit aber die lebendige Leber eine solche Diastase enthält, ist nicht sicher nachgewiesen. Zwar neigt die gewöhnliche Auffassung zu der Meinung Cl. Bernards, daß diese Diastase vital vorkommt, daß sie die Zuckerbildung aus Glykogen bewirkt und daß weiter bei Diabetes eine vermehrte Fermentwirkung vorliegt wie post mortem.

Auf der anderen Seite aber erklären mehrere Forscher, wie Dastre, Noel-Paton, Cavazzani, Mc Guigan und Brooks, die vitale Zuckerbildung durch eine besondere Tätigkeit des Protoplasmas. Diese Forscher bestreiten also das vitale Vorkommen des Enzyms. Sein postmortales Auftreten dürfte demgemäß in Übereinstimmung mit der Entstehung der übrigen autolytischen Enzyme erklärt werden.

Seine Bedeutung für die Diabeteslehre ist noch unsicherer, indem man hier auch mit der Möglichkeit einer fehlenden Glykogenbildung zu rechnen hat.

---

[1]) Zugleich zweite Mitteilung über Diastasen.

Schließlich bestreiten einige Forscher sogar das postmortale Vorkommen einer echten Leberdiastase, indem sie die Leberdiastase mit der Blutdiastase identifizieren. Diese Forscher stellen sich auch vor, daß der vermehrte Glykogenumsatz beim Diabetes eben durch die Blutdiastase vermittelt wird, indem diese in die Leberzellen eindringt.

Die ganze Lehre von der Leberdiastase und ihre Bedeutung für den physiologischen und pathologischen Glykogenumsatz ist also voll von Widersprüchen, und zwar aus dem Grunde, daß man statt Tatsachen auf Hypothesen angewiesen ist.

Die Schwierigkeiten sind daher nicht gering, da man allein an der isolierten Leber die Möglichkeit hat, diese Fragen zu studieren. Bei warmblütigen Tieren fängt die Zuckerbildung der Leber schon bei der Leberexstirpation an und geht später fort, gleichgültig, ob man die Leber mit arteriellem Blute durchströmt oder nicht. Man kann also diese ausgiebige Zuckerbildung als ein Absterbungsphänomen deuten. Die Tatsache, daß die Fähigkeit der Glykogenbildung unter denselben Umständen verloren geht, spricht für diese Auffassung. Ist aber eine solche Folgerung richtig, so darf man nur mit Vorsicht die vielen übrigen Versuche an „überlebender" Leber aufnehmen. Wenn man die gelungene Bildung von Ätherschwefelsäuren, Oxybuttersäure, Aminosäuren usw. bei Durchströmungsversuchen mit „überlebender" Leber als Beweis für die Vitalität der Leber ansehen will (Kontrollversuche mit Leberbrei fehlen meistens), so muß man entweder zwischen Vitalität und Vitalität unterscheiden, oder man muß auch die Zuckerbildung hier als einen vitalen Vorgang deuten, der von enzymatischer Natur sein kann oder nicht.

Die Befunde von Iwanow, Kraus jun., Masing[1]) u. a., daß man bei Durchströmungsversuchen an überlebender Leber nach Zusatz von Adrenalin und anderen Stoffen eine vermehrte Zuckerbildung nachweisen kann, sprechen dafür, daß diese Zuckerbildung ein vitaler Vorgang sein kann. Die Tatsache stellt aber keinen exakten Beweis dar. Bei Durchströmung mit Ringer-Lösung waren die Ausschläge nur gering und das Spülwasser wurde stark eiweißhaltig, ein Zeichen, daß Leberzellen zugrunde gegangen waren. Bei Durchströmung mit Blut besteht dann

[1]) Masing, Arch. f. experm. Pathol. u. Pharmakol. 69, 431, 1912, wo die Literatur zu finden ist.

die Möglichkeit, daß die Blutdiastase durch die geschädigten Leberzellen das Glykogen angegriffen hat. Wenn Gifte einen vermehrten Glykogenumsatz bewirken, kann man sich vorstellen, daß sie einen vermehrten Zerfall der Leberzellen hervorgerufen haben. Weiter kann man sich vorstellen, daß man es mit einer absterbenden vitalen Zuckerbildung — z. B. durch Protoplasmatätigkeit — und einer angehenden postmortalen — fermentativen — Zuckerbildung zu tun hat. Kurz, die Versuche sind nicht eindeutig.

Insofern liegen die Verhältnisse bei den von mir angestellten Versuchen übersichtlicher, indem ich[1]) die rein postmortale Zuckerbildung bei Lebern von Tieren studierte, die kurz vor dem Tode einen experimentellen Diabetes bekamen. Wäre die Zuckerbildung bei diesem Diabetes eine fermentative, so dürfte man vielleicht nachher eine ausgiebigere postmortale Zuckerbildung nachweisen können, was auch tatsächlich der Fall war. Meine Ergebnisse sind später teils bestätigt[2]), teils aber ganz in Abrede gestellt worden[3]). Auch diese Ergebnisse sind also nicht eindeutig. Zugegeben muß auch werden, daß die Versuche mit mehreren Fehlerquellen behaftet sind, was ich auch selbst hervorgehoben habe.

Selbst wenn man die Ergebnisse anerkennen will, stellen sie doch nur einen Wahrscheinlichkeitsbeweis für die vitale enzymatische Zuckerbildung dar. Es ist aber ganz klar, daß ein exakter, unzweifelhafter Beweis für die eine oder andere Möglichkeit der vitalen Zuckerbildung sehr wünschenswert ist. Wahrscheinlichkeitsbeweise und Hypothesen können uns nicht viel helfen. Man glaubt ja schon jetzt allgemein, daß die vitale Zuckerbildung eine enzymatische ist. Wahrscheinlichkeitsbeweise können dieser Auffassung weitere Bedeutung verschaffen. Kann man aber z. B. exakt beweisen, daß die vitale Zuckerbildung tatsächlich von einem diastatischen Enzym herrührt, so liegt zugleich die Möglichkeit vor, den

---

[1]) Bang, Ljungdahl und Bohm, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 408, 1907; 10, 1 u. 312, 1907.

[2]) Zegla, diese Zeitschr. 16, 111, 1909.

[3]) Starkenstein, diese Zeitschr. 24, 191, 1910. — Starkenstein und Wilenko, Zeitschr. f. klin. Med. 70, 3. u. 4. Heft, 1910. — Starkenstein, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 20, 1, 1911.

Mechanismus dieser Fermentwirkung zu erkennen, womit neue Perspektiven für die Erforschung der tierischen — normalen und pathologischen — Zuckerbildung eröffnet werden.

Um aber z. B. zwischen einer Fermentwirkung oder Protoplasmatätigkeit unterscheiden zu können, muß man erst die Leberzellen töten, und dann müssen wir von den Verhältnissen der toten Leber auf die vitalen, bekanntlich äußerst komplizierten Verhältnisse folgern. Anderseits wünschen wir, wie bemerkt, einen stringenten Beweis liefern zu können, welche Aufgabe scheinbar unlöslich ist.

Doch nur scheinbar! Stellt man nämlich die Forderungen, die für eine exakte Beweisführung notwendig sind, fest, so ist auch die notwendige Versuchsmethodik gefunden.

Die erste, prinzipielle Forderung ist, daß man über solche Lebern verfügen kann, die mit unverändert vitalen Eigenschaften extra corpus zu überleben vermögen. Trifft diese Eventualität zu, so kann man also mit der Leber allein arbeiten, was gegenüber der Arbeit mit dem gesamten Organismus einen entscheidenden Vorteil bedeutet: man beherrscht genau die Versuchsbedingungen der Leberversuche und reduziert folglich die Zahl der unbekannten Faktoren auf die Leber allein, indem die unberechenbaren Einflüsse des Organismus, u. a. des Nervensystems und der inneren Sekretion, fortfallen.

Die zweite Forderung ist, daß getrennte Leberlappen dieselben vitalen Eigenschaften wie die supponierte, unversehrte Leber besitzen müssen. Diese Forderung stellt nicht, wie die erste, eine conditio sine qua non dar. Man könnte gewiß durch Vergleich von verschiedenen Leberversuchen das Ziel erreichen. Doch können solche Versuche jedenfalls nicht die Beweiskraft besitzen wie verschiedene Versuche mit derselben Leber. Erst dadurch werden die Versuche ganz eindeutig, wenn, wohlgemerkt, die dritte Forderung erfüllt wird: die verschiedenen Leberlappen müssen sowohl qualitativ wie quantitativ genau übereinstimmen.

Unter diesen Voraussetzungen wäre es möglich, durch Vergleich der vitalen und postmortalen Zuckerbildung derselben Leber die vitale Zuckerbildung zu erforschen.

A priori ist es ganz ausgeschlossen, daß die Lebern warmblütiger Tiere diese Bedingungen erfüllen können.

Bei kaltblütigen Tieren liegen die Verhältnisse günstiger, da hier eine — sogar reichliche — Glykogenbildung vorkommen kann (Grube). Auch in einer anderen Beziehung sind die Organe der Kaltblüter günstig, indem sie des langsamen Stoffwechsels wegen sogar ohne Durchströmung mit Blut, nur in eine Ringer-Lösung gesetzt, mehrere Tage überleben können. Dies ist außerordentlich leicht am Muskel — z. B. Froschmuskel — nachzuweisen, indem dieser, wenn lebendig, auf eine elektrische Erregung mit einer Contraction antwortet. Wir haben also hier eine typische Lebenserscheinung als Kriterium, die auch quantitativ mit der Muskelcontraction des lebendigen Muskels in situ übereinstimmt.

Nun bietet aber die Leber keine für das Auge direkt wahrnehmbare Lebenserscheinung dar. Die Frage ist infolgedessen, inwieweit entscheidende Merkmale für die unveränderte Vitalität derselben zu finden sind. Für die Froschleber läßt sich eine solche Vitalität jedenfalls exakt beweisen. Da nun weiter diese Leber auch die übrigen Forderungen vollinhaltlich erfüllt, ist das gewünschte Versuchsobjekt gefunden. Da dies Versuchsmaterial auch leicht und billig zu beziehen ist, ist es mir auch möglich gewesen, im Laufe der letzten 3 Jahre mehrere hundert Versuche anzustellen, wobei ich schließlich zu einem gewissen Abschluß gekommen bin.

Die Voraussetzung dieser Versuche ist aber, daß man sehr geringe Zuckermengen — bis zu Bruchteilen von Milligrammen — exakt zu bestimmen vermag. Es war deswegen notwendig, eine entsprechende Methode zur Zuckerbestimmung ausfindig zu machen. Die Methode ist in einer der vorhergehenden Abhandlungen beschrieben worden.

Im folgenden soll zuerst der Beweis dafür geliefert werden, daß die überlebenden Leberlappen der ausgeschnittenen Froschleber ihre vitalen Eigenschaften unverändert besitzen. Es soll weiter erwiesen werden, daß die Eigenschaften der verschiedenen Leberlappen übereinstimmen.

In dem folgenden Abschnitt wird die vitale Zuckerbildung der überlebenden Leberlappen mit der postmortalen Zuckerbildung der Leber verglichen, wobei der prinzipielle Vorgang der vitalen Zuckerbildung erklärt werden soll.

In dem dritten Abschnitt wird die Zuckerbildung der

lebenden Froschleber unter verschiedenen Versuchsbedingungen studiert.

Hiermit sind die Vorbedingungen für ein erfolgreiches Studium des experimentellen Diabetes an der überlebenden Froschleber gegeben.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sollen in der folgenden Abhandlung mitgeteilt werden.

Ehe ich zu der Beweisführung übergehe, ist es notwendig, erst die Versuchsmethodik zu besprechen.

2. Methodik.

Die Untersuchungen sind mit Rana esculenta (aus Ungarn) und Rana fusca [temporaria] (aus Schweden, frisch eingefangene Exemplare) angestellt worden. Nach Dekapitation und Vernichtung des Rückenmarks wurde die Leber freigelegt und exstirpiert. In vielen Versuchen wurde jedoch die Leber zuerst von der Aorta aus durch Durchströmung mit verschiedenen isotonischen Lösungen von Blut befreit. In zahlreichen Versuchen wurde außerdem die exstirpierte Leber von der Porta aus (meist als Lappen) ausgespült. Selbst wenn man die Leber so lange von der Aorta aus durchströmt hat, daß das Spülwasser farblos abgeht, gelingt es oft, nachher von der Porta aus sogar verhältnismäßig viel Blut zu entfernen. Nur die Versuche, die mit solchen, von der Porta aus durchströmten Lebern angestellt worden sind, können über die Bedeutung des Blutes entscheiden. Es soll deshalb später überall angegeben werden, in welcher Weise die Durchströmung ausgeführt worden ist.

Nachdem die Lebern von Bindegewebe und Pankreas sorgfältig befreit worden waren, wurden sie mit der Schere in drei Lappen geschnitten. Die Froschleber besteht aus drei, ausnahmsweise zwei oder vier Lappen, die miteinander durch Brücken von Lebersubstanz verbunden sind. Der eine Lappen hängt gewöhnlich nur durch einen recht dünnen Stiel mit den zwei übrigen zusammen. Diese sind meistens breit zusammengewachsen, was aber nicht die glatte Durchtrennung verhindert. Übrigens findet man recht oft kleinere oder größere Unterschiede. Der erste Lappen läßt sich wegen seines langen dünnen Stieles bequem in situ unterbinden. Folglich kann man schon durch Durchströmung von der Aorta aus die zwei übrigen

Lappen von Blut befreien und den ersten Lappen als Kontrolle benutzen.

Die getrennten Lappen wurden mit einem Seidenfaden befestigt und gewogen. Das Gewicht der drei Lappen stimmt recht gut überein, der eine (zusammengewachsene) wiegt jedoch oft bedeutend weniger als die zwei übrigen. Das absolute Gewicht der Lappen schwankt bedeutend. Die kleinen Rana fuscae liefern Lappen von 300 bis 600 mg je nach der Größe, die größten R. esculentae dagegen Lappen bis zu 2000 mg und darüber, gewöhnlich jedoch von 600 bis 1000 mg. Für die meisten Versuche haben sich die kleineren Lappen (von R. esculentae) besser bewährt. Lappen von über ca. 1 g Gewicht dürfen in der Regel nicht für Überlebungsversuche verwendet werden, da die Sauerstoffversorgung ungenügend wird.

Nach der Wägung wurden die Lappen für Überlebungsversuche in eine Flasche mit 100 ccm Ringer- oder anderen Lösungen übergeführt. Die Lösungen wurden als Regel während des Versuches jede Stunde und öfter leise geschüttelt, was jedoch nicht unbedingt notwendig ist. Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur angestellt und dauerten 6 bis 10 Stunden. Es passiert bisweilen, daß etwas Blut aus den Lappen in die Lösung geht. Trifft dies gleich nach der Überführung in die Flasche zu, so wird die Leber in eine neue Lösung übergeführt, sonst nicht.

Nach beendigter Versuchszeit wurden die Leberlappen in einen Brei verwandelt, dieser mit 10 bis 20 ccm Wasser versetzt und die Mischung unter Zusatz von 2 bis 3 Tropfen Essigsäure aufgekocht und gleich wieder abgekühlt. Nach Schütteln mit Kaolin, das sich sehr gut bewährt hat, wurde filtriert. 2, ausnahmsweise 4 ccm des Filtrates wurden zur Zuckerbestimmung verwendet. Von der Ringer- und anderen Lösungen wurden 38,5 ccm mit 11 g KCl und 16,5 ccm Kupferstammlösung versetzt und die Reduktion nach dem Kochen wie gewöhnlich mit Jodlösung ($^{n}/_{100}$) bestimmt.

Oft wurde die Leber als Brei mit Wasser usw. digeriert und nach beendigter Versuchszeit (6 bis 10 Stunden) wie oben zur Zuckerbestimmung verwendet.

Die Versuchsbedingungen wurden übrigens vielfach geändert. Hiervon wird später die Rede sein.

3. Die Vitalität der überlebenden Froschleber.

Das Kriterium über die Vitalität eines Organismus oder der einzelnen Organe besteht in dem Nachweis von Lebenserscheinungen. Sind keine Lebenserscheinungen nachweisbar, so ist das Organ oder der Organismus als tot anzusehen. Für Organe oder Zellen, die charakteristische Lebenserscheinungen aufweisen, wie der Muskel, die Flimmerepithelien, Spermatozoen usw., ist eine solche Beurteilung einfach. Ist die Motilität oder Contractionsfähigkeit für immer erloschen, so sind die Zellen tot. Schwieriger liegt das Problem, wenn keine solchen Merkmale vorkommen. Es fragt sich dann: Gibt es andere Lebenserscheinungen, die mit derselben Beweiskraft die ursprüngliche Vitalität anzeigen können? Es ist ganz klar, daß Versuche mit Leberzellen unbedingt ein solches, ganz entschiedenes Kriterium erfordern. Tatsächlich besitzen auch alle lebendigen Zellen eine Erscheinung, die zur Beurteilung ihrer Vitalität besonders wichtig ist und die ebenso beweiskräftig sein dürfte wie die obengenannten: die Semipermeabilität ihrer Lipoidmembran.

Die Lipoidmembrann ist bekanntlich für Wasser und lipoidlösliche Stoffe durchlässig, für Salze und lipoidunlösliche Stoffe aber impermeabel. Diese lebendige Membran reguliert also die osmotischen Verhältnisse der Zelle, und durch Untersuchung des osmotischen Druckes kann man an das Intaktbleiben der Lipoidmembran folgern. Mit dem Zelltod zerfällt die Membran, und dann diffundieren die Zellbestandteile aus. Aus dem Zerfall der Zelle kann man unbedingt den Zelltod folgern. Es fragt sich aber, inwieweit man bei einem Intaktbleiben der Lipoidmembran, eine unversehrte Vitalität der Zelle folgern darf. Läßt sich m. a. W. beim Absterben die sinkende Vitalität an der Lipoidmembran nachweisen?

Die Untersuchungen — vor allen von Overton — an Froschmuskeln geben hierüber eine exakte Beantwortung. Während des Absterbens ändern sich nach und nach die osmotischen Verhältnisse des Muskels, indem die Lipoidmembran zunächst für einige Salze, wie NaCl, durchlässig wird, während sie noch für andere Salze, wie Kaliumphosphat (und Kolloide), undurchlässig ist. Infolgedessen nehmen die Muskelfasern zuerst bedeutend an

Gewicht zu. Erst später wird die Membran derartig verändert, daß auch Kolloide und intracelluläre Salze exosmieren. Der Muskel nimmt jetzt an Gewicht ab.

Da nun die Contractilität des Muskels von der Integrität der Lipoidmembran abhängig ist, geht diese Fähigkeit nach und nach parallel mit der Permeabilitätsänderung verloren. Man kann also sagen, daß die Contraction des Muskels gewissermaßen ein Kriterium der Integrität der Lipoidmembran ist. Und wenn die Muskelcontraction als entscheidendes Kriterium der Vitalität angesehen wird, kann man mit demselben Recht den Nachweis der unversehrten Lipoidmembran als das entscheidende Merkmal ansehen.

Auf die Leber angewendet, ist es also möglich, durch Bestimmung ihrer osmotischen Eigenschaften bindende Beweise für oder gegen ihre Vitalität zu ziehen. Wie oben erwähnt, gibt die Säugetierleber bei der Durchspülung mit Ringer-Lösung reichlich Eiweiß ab. Man darf hieraus folgern, daß die Lipoidmembran zerfallen ist. Diese Leber ist also nicht als lebendig anzusehen. Wenn man annimmt, daß eine Durchspülung mit Blut hieran etwas gebessert wird, ist es jedoch unbedingt notwendig, hierfür einen Beweis zu liefern, was bis jetzt nicht geschehen ist. (Daß einige Leberzellen einige Zeit überleben können, ist zwar möglich.)

Schon a priori ist es wahrscheinlich, daß die Froschleber in Ringer-Lösung einige Zeit lebt. Ihr Stoffwechsel ist im Winter recht träge, das Sauerstoffbedürfnis folglich gering und dürfte von der in Ringer-Lösung absorbierten Luft zufriedengestellt werden, besonders wenn die Ringer-Lösung bisweilen geschüttelt wird. Tatsächlich hat auch Overton[1]) gefunden, daß „Leberlappen von Herbstfröschen unter solchen Bedingungen (z. B. Kälte und Ringer-Lösung mit Luft oder Sauerstoff geschüttelt) meistens mehrere Tage[2]) am Leben bleiben". Diese Folgerung Overtons ist eben aus der erhaltenen Semipermeabilität der Leberlappen gezogen.

Da aber die vorliegende Untersuchung die Zuckerbildung bezweckt, kann man nicht gut die Versuche bei 4 bis 5° anstellen, da die Fermentation in der Kälte nur unbedeutend ist.

---

1) Overton, Nagels Handb. d. Physiol. 2, 846, 1906.

2) Vom Verf. cursiviert.

Es fragt sich dann, ob und wie lange die Leber bei der notwendigen Versuchstemperatur (Zimmertemperatur 15° bis 19°) überleben kann. Bei dieser Temperatur ist der Stoffwechsel selbstverständlich viel lebhafter. Andererseits braucht man nur die Leber einige Stunden überleben zu lassen. Und wenn die Leber nach Overton bei 4 bis 5° mehrere Tage überlebt, dürfte sie wahrscheinlich bei Zimmertemperatur 6 bis 12 Stunden überleben. Mehr als 12 Stunden dauerten die Versuche über die Zuckerbildung der Leber nicht. Die unten mitgeteilten Versuche zeigen, daß kein Unterschied der Leber zwischen 4 bis 5° und 18° bis 19° während dieser Zeit zu finden ist. In einigen Versuchen wurde außerdem 1 : 10000 H_2O_2 zu der Ringer-Lösung zugesetzt, das für den Froschmuskel unschädlich ist (Privatmitteilung von Prof. Overton an den Verf.). Auch hier wurde kein Unterschied gefunden, was anzeigt, daß auch die in Ringer-Lösung absorbierte Luft genügt.

Zur Beurteilung der Versuche mag außerdem die Bemerkung vorausgeschickt werden, daß die osmotische Konzentration der Froschgewebe etwas variabel ist, je nachdem die Frösche in Wasser leben oder nicht. Im letzteren Falle sind sie ärmer an Wasser, und ihre Gewebe besitzen folglich eine größere osmotische Konzentration. Die unten verwendeten Frösche hatten meistens einige Tage im Aquarium gelebt. Schließlich ist daran zu erinnern, daß eine kleine Fehlerquelle durch adhärierendes Wasser bei der Wägung entsteht. Man kann dieselbe auf etwa 0,05 g schätzen.

Bekanntlich ist der osmotische Druck des Froschblutes niedriger als derjenige der Säugetiere und entspricht etwa 0,65 bis 0,70% NaCl. Die Ringer-Lösung besteht demgemäß aus 6 g NaCl, 0,2 g KCl und 0,4 g $CaCl_2 + 6 H_2O$ pro 1 l Wasser.

Die Versuche sind ausschließlich mit R. esculenta angestellt worden. Erst nach Aufenthalt von einer Stunde in Ringer-Lösung wurden die Lappen zum erstenmal gewogen.

Aus den Versuchen geht hervor, daß die Leber im Laufe von ca. 24 Stunden ihr Gewicht unverändert beibehält oder eine geringe Gewichtszunahme zeigt. Es ist weiter ersichtlich, daß kein Unterschied zwischen 4 bis 5° und 18° zu finden ist. Hieraus läßt sich exakt folgern, daß die Leber bei 18° dieselbe Vitalität wie bei 4 bis 5° besitzen muß.

Tabelle I.

Vers. Nr.	Versuchszeit Std.	Temperatur Grad	Gewicht der Lappen			Anmerkungen
			Nr. 1 g	Nr. 2 g	Nr. 3 g	
1	—	4—5	1,255	2,144	—	Nr. 1 in 100 ccm Ringer-Lösung
	17	4—5	1,335	2,492	—	Nr. 2 in 75 ccm Ringer-Lösung
	24	4—5	1,330	2,424	—	+ 25 ccm isoton. Dextroselösg.
2	—	4—5	1,920	2,235	2,516	Nr. 1 in 100 ccm Ringer-Lösung
	16	4—5	1,921	2,378	2,735	Nr. 2 u. 3 in 75 ccm Ringer-Lösg.
	24	4—5	1,922	2,410	2,820	+ 25 ccm Dextroselösung
	40	4—5	2,127	2,523	3,083	
3	—	4—5	0,956	1,475	1,230	Nr. 1 in 100 ccm Ringer-Lösung
	19	4—5	1,082	1,506	1,360	Nr. 2 u. 3 in 75 ccm Ringer-Lösg.
	24	4—5	1,090	1,510	1,404	+ 25 ccm Dextroselösung
4	—	18	0,957	0,861	1,080	Nr. 1 in 100 ccm Ringer-Lösung
	6	18	1,005	0,875	1,102	Nr. 2 u. 3 in 75 ccm Ringer-Lösg.
	24	18	1,027	0,920	1,140	+ 25 ccm Dextroselösung
5	—	18	1,675	1,847	—	Nr. 1 in 100 ccm Ringer-Lösung
	3	18	1,696	1,880	—	Nr. 2 in 100 ccm isoton. Dextroselösung
	19	18	1,726	1,952	—	
	22	18	1,723	1,970	—	
6	—	18	1,190	1,055	0,659	Nr. 1 in 100 ccm Ringer-Lösung + 1 ccm 26 % NaCl
	9	18	1,180	1,262	0,738	Nr. 2 in 80 ccm Ringer-Lösung + 20 H_2O Nr. 3 in 85 ccm Ringer-Lösung

Es fragt sich, inwieweit die mehrmals nachgewiesene Gewichtszunahme ein Absterbungsphänomen darstellt oder nicht. Im letzteren Falle müßte die Ringer-Lösung hypisotonisch sein. Daß dies tatsächlich der Fall ist, geht aus dem Versuch 6 hervor, in dem ein NaCl-Gehalt von 0,86 % (+ KCl und $CaCl_2$) eine Verminderung des Gewichtes bedingt, ein NaCl-Gehalt von 0,50 % eine Zunahme von 20 % und die normale Ringer-Lösung eine Zunahme von ca. 9 % bedingen — alles nach 9 Stunden. Auch der folgende Versuch ist sehr überzeugend: Zwei Leberlappen wogen gleich nach der Exstirpation 0,986 g und 0,788 g, nach Aufenthalt von $2\frac{1}{2}$ Stunden in Ringer-Lösung 1,078 g und 0,866 g, nach 5 Stunden 1,121 g und 0,896 g — eine Zunahme von ca. 12 %. Jetzt wurde Nr. 2 mit 1 ccm 0,9 %iger NaCl-Lösung versetzt. Nach 4 Stunden wog er 0,782 g, nach 21 Stunden ebenfalls 0,782 g.

Es läßt sich auch mit großer Wahrscheinlichkeit zeigen, warum die Ringer-Lösung hypisotonisch ist: die Leber bildet

Traubenzucker aus Glykogen, und zwar wurden bis 10 °/₀₀ und darüber nachher in der Leber gefunden. Der ursprüngliche Zuckergehalt ist immer sehr unbedeutend.

Nun zeigen die obigen Versuche, daß ein Zusatz von Traubenzuckerlösung zu der Ringer-Lösung keinen oder so gut wie keinen Einfluß ausübt. Der Traubenzucker geht also nicht oder jedenfalls nur in sehr geringer Menge hinein. Im folgenden sollen zahlreiche Belege dafür gegeben werden, daß relativ reichliche Mengen Traubenzucker aus der Leber exosmieren — 50 °/₀ des gebildeten Zuckers und darüber. Die Lipoidmembran der Leberzellen besitzt also die Fähigkeit einer einseitigen Durchlässigkeit des Traubenzuckers, was ein exquisit vitales Vermögen darstellt. Daß die Leberzellen bisweilen auch Traubenzucker aufzunehmen vermögen, ist nach Overton wahrscheinlich und soll nicht bestritten werden. Overton (l. c.) gibt hierfür die Erklärung, daß „die Leberzellen bei der Aufnahme der betreffenden Stoffe aktiv beteiligt sind".

In Anbetracht dessen, daß die Gewichtszunahme immer nur gering ist (mit einer Ausnahme übersteigt sie nicht 10 bis 12 °/₀), daß weiter die Hypisotonie der Ringer-Lösung für diese Leber direkt nachgewiesen worden ist, daß weiter der gebildete Leberzucker a priori einen größeren osmotischen Druck der Leber (trotz der Exosmose des Zuckers) bewirken muß, ist die Folgerung berechtigt, daß die Versuche eine unveränderte Vitalität der Leber anzeigen. Hierzu kommt weiter der Umstand, daß eine Erstickung der Leberzellen um so schneller eintreten muß, je größer die Lappen sind. In den obigen Versuchen sind, wie ersichtlich, so gut wie überall Leberlappen von 1 bis 2,5 g Gewicht verwendet worden. In den folgenden zahlreichen Versuchen kommen meistens nur Lappen von weniger als 1 g zur Verwendung. So sind etwa 100 Versuche mit R. fusca angestellt, in denen die Leberlappen nur selten über 500 mg und oft etwa 300 mg wogen. Da nun sämtliche Versuche absolut eindeutig ausgefallen sind, sprechen auch diese Ergebnisse dafür, daß die Leberzellen überall lebendig gewesen sind, und also nicht allein, wo ein absolut unverändertes Gewicht vorkam. Schließlich darf die Analogie mit den Froschmuskeln hervorgehoben sein. Diese überleben auch mehrere Tage bei Zimmertemperatur, wie in der Kälte.

Die Folgerung ist deswegen berechtigt, da die osmotischen Versuche bei Zimmertemperatur die unversehrte Vitalität der Leberlappen beweisen, jedenfalls bei einer Versuchszeit von 24 Stunden oder weniger.

In den obigen Versuchen waren die Leberlappen bluthaltig. Nach Durchspülung mit Ringerlösung zeigen die Leberlappen genau dieselben osmotischen Verhältnisse. Hätte man indessen nur die osmotischen Verhältnisse als Kriterium der Vitalität, so wäre es wahrscheinlich notwendig, dieselben etwas ausführlicher zu untersuchen. Nun kann man aber auch andere Momente als mehr oder weniger überzeugende Beweise der Vitalität anführen. Oben ist schon die einseitige Diffusion des Traubenzuckers erwähnt. Ein zweites Kriterium bildet das Aussehen der bluthaltigen Ringerleber nach beendigter Versuchszeit. Die Leber ist fortwährend schon rot und enthält noch arterielles Blut. Eine Erstickung kann folglich nicht stattgefunden haben. Ein dritter Beweis ist das Ausbleiben einer Milchsäurebildung. Jedenfalls wird so wenig Milchsäure gebildet, daß die Reaktion unverändert bleibt. Bei der Erstickung findet bekanntlich eine beträchtliche Milchsäurebildung statt.

Schließlich läßt sich die Glykogenbildung der Leber als Beweis anführen. Per analogiam darf man auch diese Fähigkeit für die Froschleber vindizieren. Experimentelle Untersuchungen hierüber sind bei der Froschleber nicht angestellt worden.

Aber abgesehen von diesen sämtlichen Beweisen läßt sich ein Kriterium hervorheben, das nach meiner Ansicht noch überzeugender ist, nämlich die Zuckerbildung der überlebenden Froschleber, die unzweifelhaft ein aktives Vermögen darstellt. Hierüber wird im folgenden die Rede sein. Ich verweise also auch hierauf als auf einen exakten Beweis der Vitalität der Froschleber in Ringer-Lösung.

Wenn also die Leber in Ringer-Lösung überlebt, fragt es sich, inwieweit sie identische Eigenschaften mit der lebendigen Leber in situ besitzt. Wenn man sich erinnert, 1. daß die Blutzirkulation fehlt, 2. daß die Abhängigkeit von dem zentralen und sympathischen Nervensystem aufgehoben worden ist, und 3. daß die Hormone der inneren Sekretion vor allen

von Pankreas ausgefallen sind, so muß man a priori dies bezweifeln. Aber eben weil alle diese Faktoren (das Blut dürfte doch in erster Linie als Vermittler der inneren Sekretion in Betracht kommen) fehlen, liegen die Verhältnisse einfacher und übersichtlicher. In welchem Umfang man an die Verhältnisse der normalen Leber in situ folgern kann, mag aus den folgenden Ergebnissen hervorgehen.

4. Die Zuckerbildung der überlebenden Froschleber in Ringer-Lösung.

Von den Eigenschaften der überlebenden Leber wird in dem folgenden nur die Zuckerbildung in Betracht kommen. Es interessiert zunächst zu wissen, inwieweit die verschiedenen Leberlappen eine übereinstimmende Zuckerbildung aufweisen. Um die Versuchsbedingungen so einfach und eindeutig wie möglich zu machen, werden zuerst die exstirpierten, nicht vom Blut befreiten Lebern in Ringer-Lösung besprochen, indem die Ergebnisse zur besseren Übersicht tabellarisch zusammengestellt werden. Die Versuche sind in den Monaten August bis März ausgeführt worden. Die Tabelle kann folglich auch über die absoluten Werte der Zuckerproduktion in den verschiedenen Monaten unterrichten. Aus diesem Grunde sind auch solche Versuche angeführt worden, wo nur ein Leberlappen in Ringer-Lösung überlebte, während die übrigen zu verschiedenen Zwecken verwendet wurden.

Bekanntlich bilden die Frösche im Sommer und Herbst reichlich Glykogen, das sich während des Winters erhält, um im Frühjahr gänzlich zu verschwinden. Tatsächlich wandert das Glykogen größtenteils in die Fortpflanzungsorgane über. (In Schweden tritt bekanntlich die Laichzeit später als in Deutschland ein. Das Glykogen dürfte demgemäß hier etwas länger in der Leber verbleiben.)

Weiter ist daran zu erinnern, daß der Stoffwechsel im Winter viel träger ist als im Frühjahr bis Herbst. Damit übereinstimmend beträgt die Blutzuckerkonzentration im Winter nur 0,02 %, im Frühjahr und Herbst aber 0,04 %. Bei kürzerem Aufenthalt in Zimmertemperatur steigt die Blutzuckerkonzentration auch im Winter auf 0,04 %.

Hieraus läßt sich mit einiger Wahrscheinlichkeit voraus-

Tabelle II.

a) R. esculenta.

Versuch Nr.	Datum	Gewicht des Leberlappens	Zuckermenge a) der Ringer-Lösung	Zuckermenge b) des Leberlappens	Summe des Zuckers	Zucker	Differenz d. Zuckers in d. verschiedenen Lappen der Leber a) absolut	Differenz d. Zuckers in d. verschiedenen Lappen der Leber b) relativ
		g	mg	mg	mg	‰	‰	%
1	29. VIII.	0,911	3,5	3,6	7,1	7,8	—	—
		0,584	2,0	2,5	4,5	7,7	0,1	1
2	30. „	1,323	3,2	3,0	6,2	4,6	—	—
3	31. „	0,769	1,00	2,40	3,4	4,4	—	—
4	1. IX.	1,605	1,25	5,25	6,5	4,0	—	—
5	18. X.	0,588	1,90	0,80	2,7	4,8	—	—
6	22. X.	0,765	5,00	2,35	7,35	9,6	—	—
7	3. XI.	1,461	5,0	15,0	20,0	14,0	—	—
8	5. „	0,931	4,4	2,5	6,9	7,4	—	—
		0,830	2,2[1])	2,5	4,7	5,6	1,8	32,5
9	7. „	2,474	5,7	11,15	16,85	6,8	—	—
10	13. „	0,310	1,2	2,25	3,35	11,0	—	—
11	15. „	0,608	1,55	5,25	6,80	11,2	—	—
12	23. „	0,918	7,3	3,45	10,75	11,7	—	—
13	26. „	0,357	1,6	1,25	2,85	8,0	—	—
14	26. „	1,336	10,4	7,0	17,4	13,1	—	—
15	30. „	2,255	6,0	9,0	15,0	5,2	—	—
16	2. XII.	1,676	6,6	5,2	11,8	7,0	—	—
17	4. „	0,757	1,20	5,55	6,75	9,0	—	—
		1,197	3,00	10,00	13,00	11,0	2,0	22,2
18	4. „	1,319	2,05	4,40	6,45	4,9	—	—
19	5. „	1,200	7,8	8,65	16,45	13,7	—	—
		0,880	4,0	5,50	9,50	11,0	2,7	24,5
20	6. „	1,340	3,2	7,12	10,32	8,0	—	—
21	7. „	0,691	2,9	1,75	4,65	7,0	—	—
22	7. „	0,940	6,15	3,50	9,65	10,3	—	—
		0,778	4,80	2,50	7,30	9,4	0,9	9,6
23	8. „	1,006	3,3	5,0	8,3	8,2	—	—
		0,643	1,6	2,0	3,6	5,6	2,6	44,6
24	9. „	0,615	1,65	5,50	7,15	11,6	—	—
		0,858	1,50	6,25	7,75	9,1	2,5	27,5
25	10. „	2,239	1,85	6,90	8,75	3,9	—	—
		1,575	2,65	3,50	6,15	3,9	0	0
26	11. „	1,174	5,3	6,0	11,30	9,6	—	—
		0,796	3,8	2,5	6,30	8,0	1,6	20,0
27	12. „	0,871	5,5	2,0	7,5	8,6	—	—
		0,661	3,4	2,0	5,4	8,0	0,6	7,5
28	12. „	1,082	2,3	11,0	13,3	12,3	—	—
		0,696	2,6	5,5	8,1	11,7	0,6	5,2
29	16. „	0,721	6,10	4,58	10,68	11,6	—	—
30	18. I.	1,310	3,30	6,0	9,30	7,1	—	—
31	3. II.	1,690	6,3	12,6	18,9	11,2	—	—
32	4. „	1,290	4,9	5,8	10,7	9,0	—	—
33	6. „	1,190	4,9	9,9	14,8	14,7	—	—

[1]) Isotonische Kalium-Äthylsulfatlösung.

Tabelle II (Fortsetzung).
b) R. fusca.

Versuch Nr.	Datum	Gewicht des Leberlappens	Zuckermenge a) der Ringer-Lösung	Zuckermenge b) des Leberlappens	Summe des Zuckers	Zucker	Differenz d. Zuckers in d. verschiedenen Lappen der Leber a) absolut	b) relativ
		g	mg	mg	mg	‰	‰	%
34	23. VIII.	0,476	1,9	3,0	4,9	10,0	—	—
		0,484	2,1	2,8	4,9	10,0	0	0
35	24. „	0,881	1,5	2,5	4,0	4,5	—	—
		0,771	1,4	2,0	3,4	4,4	0,1	2,3
36	26. „	0,756	2,5	2,5	5,0	6,6	—	—
37	27. „	0,706	3,5	2,5	6,0	8,5	—	—
38	7. IX.	0,560	1,46	1,85	3,31	6,0	—	—
		0,381	1,90	1,50	3,40	8,9	2,9	48,2
39	9. „	0,438	0,90	1,45	2,35	5,4	—	—
		0,496	1,00	1,50	2,50	5,0	0,4	8,0
40	10. „	0,458	1,50	1,00	2,50	5,5	—	—
		0,572	1,60	1,30	2,90	5,1	0,4	8,0
41	19. „	0,715	2,1	0,75	2,85	4,0	—	—
42	23. „	0,614	3,65	1,85	5,50	9,0	—	—
43	3. X.	0,654	1,95	1,50	3,45	5,3	—	—
44	4. „	0,373	1,50	1,20	2,70	7,2	—	—
45	23. „	0,260	1,50	0,50	2,00	8,0	—	—
46	24. „	0,495	1,70	0,75	2,45	5,0	—	—
47	1. XI.	0,258	1,80	1,00	2,80	10,0	—	—
48	22. „	0,302	2,05	2,50	4,50	14,9	—	—
49	26. „	0,357	1,60	1,25	2,85	8,0	—	—
50	15. XII.	0,310	2,00	2,00	4,00	13,0	—	—
		0,315	1,80	2,20	4,00	12,7	0,3	2,3

sehen, daß auch die Zuckerproduktion der Leber in verschiedenen Jahreszeiten abweichende Werte aufweist, was auch tatsächlich zutrifft, und zwar sowohl für R. esculenta wie für R. fusca. Da indessen der Mechanismus der Zuckerbildung bei diesen beiden recht bemerkenswerte Unterschiede aufweist sollen sie schon zu Anfang jeder für sich besprochen werden, trotzdem sie betreffs der physiologischen Zuckerbildung übereinstimmen.

Aus der Tabelle ergeben sich mehrere Tatsachen: Erstens, daß die Zuckerbildung bei R. fusca und R. esculenta übereinstimmen oder richtiger, daß der gefundene Zuckergehalt nach Verweilen von 7 bis 10 Stunden in Ringer-Lösung innerhalb derselben Grenzen sich bewegt, nämlich von 4‰ bis 14‰. Zweitens ist ersichtlich, daß die Froschleber in den Monaten August bis September (zum Teil auch Oktober) nach Verweilen in Ringer-Lösung durchschnittlich bedeutend

weniger Zucker enthält, als in der folgenden Zeit. Die betreffenden Ziffern sind für Esculenta 5,1 ‰ und 9,1 ‰, für Fusca 6,8 ‰ und 9,0 ‰. Dieses Verhältnis hängt wahrscheinlich mit der Glykogenbildung im Herbst und Überführung des Kohlenhydrates in die Fortpflanzungsorgane im Winter zusammen. Bemerkenswert ist aber, daß in der Zeit, wo der Blutzuckergehalt verhältnismäßig groß ist (August und September) der Zuckergehalt der Leber geringer ist als in der Zeit, wo die Blutzuckerkonzentration auf ein Minimum abgesunken ist. Wenn tatsächlich die Befunde der Leberuntersuchung die intravitalen Verhältnisse abspiegeln, muß dies bedeuten, daß die Fortpflanzungsorgane energisch den gebildeten Blutzucker aufsaugen.

Ein Blick auf die Tabelle zeigt aber, daß von der erwähnten Gesetzmäßigkeit zahlreiche Ausnahmen vorkommen. So findet man bisweilen im August und September einen reichlichen Zuckergehalt und umgekehrt in der folgenden Zeit öfters einen geringen. Das letztere Verhältnis hängt jedenfalls zum Teil mit dem variablen Glykogengehalt der Leber zusammen. Wenn ein unbedeutender Glykogengehalt vorliegt, findet man konstant nur wenig Zucker.

Drittens zeigen die Versuche, daß der Zuckergehalt der verschiedenen Leberlappen recht gut übereinstimmte. Die absolute Differenz von den 17 Doppelversuchen beträgt pro Tausend des Lebergewichtes **1,1**, in Prozenten umgerechnet (die Kontrolle = 100) **16**. Nur ausnahmsweise kommen größere Differenzen vor, in keinem Falle beträgt die Differenz **50** %. Dies Verhältnis ist für die folgenden Untersuchungen von prinzipieller Bedeutung; diese zeigen mit Evidenz, daß vergleichende Untersuchungen der verschiedenen Leberlappen verschiedene Ergebnisse liefern können, wenn nämlich eine Differenz des Zuckergehaltes von über 50 % vorkommt.

Die Versuche zeigen weiter, daß unter den verschiedenen Lebern — selbst zu ungefähr derselben Zeit — Differenzen von über 100 % Zucker oft vorkommen. Also müssen Untersuchungen an verschiedenen Lebern viel weniger eindeutig als bei verschiedenen Lappen derselben Leber ausfallen. (Diese Ergebnisse werden auch durch die folgenden Versuche weiter sichergestellt.)

Schließlich geht aus den Versuchen die Tatsache hervor, daß ein Teil des Zuckers — etwa $40\,^0/_0$ — aus der Leber in die Lösung auswandert. Dieser Teil ist bei den kleinen Lappen der Fusca größer als bei den großen Lappen von Esculenta. In der Tabelle I ist nachgewiesen, daß der der Ringer-Lösung zugesetzte Zucker nicht oder jedenfalls nur zum geringsten Teil in die Leber geht. Die Ausscheidung des Leberzuckers repräsentiert folglich ein aktives Vermögen der Leber. Dies um so mehr, als die intracellulären Salze (die Phosphate) während dieser Zeit nicht exosmieren (drei Versuche).

Aus den gefundenen Tatsachen ergeben sich mehrere Fragen, von denen die, inwieweit der nachgewiesene Zucker neugebildet worden oder präformiert gewesen ist, zunächst beantwortet werden soll. Diese Frage wurde durch die Zuckerbestimmung bei einem gleich exstirpierten Leberlappen erledigt; die anderen Lappen wurden nach Verweilen in Ringer-Lösung auf Zucker untersucht. In 9 Versuchen an Fusca während der Monate August und September wurden nur unbestimmbare Spuren von Zucker präformiert gefunden ($= < 0{,}1\,^0/_{00}$). In 4 von diesen Versuchen wurden nach Verweilen in Ringer-Lösung $6\,^0/_{00}$, $6\,^0/_{00}$, $5{,}5\,^0/_{00}$ und $6{,}7\,^0/_{00}$ gefunden. Dieser Zucker ist also so gut wie gänzlich neugebildet. In einem Versuch von $\frac{19}{X}$ wurde dagegen $0{,}5\,^0/_{00}$ Zucker präformiert nachgewiesen. Die Kontrolle in Ringer-Lösung lieferte $7{,}5\,^0/_{00}$ Zucker. An Esculenta wurden in den Monaten November bis Februar die unten angeführten Versuche ausgeführt.

Aus den angeführten Versuchen lassen sich ebenfalls wichtige Tatsachen ziehen. Die erste, wichtigste Tatsache ist, daß die Ringer-Leber Zucker bildet. Nur in einem Versuch wurde die Zuckerbildung vermißt, in den übrigen 11 Esculentaversuchen und ebenso in den Fuscaversuchen wurde die Neubildung nachgewiesen.

Zweitens ist ersichtlich, daß der präformierte Zuckergehalt recht variabel ist. Doch läßt sich die Gesetzmäßigkeit finden, daß in den Monaten August und September, wo nach Verweilen in Ringer-Lösung die geringste Zuckermenge nachgewiesen wurde, der präformierte Zucker so gut wie vollständig fehlt. Später in den ersten und letzten Monaten des Jahres kommt

Tabelle III.

Versuch Nr.	Gewicht des Lappens g	Absolute Zuckermenge[1]) mg	Zucker ‰	Neugebildeter Zucker ‰
1 a)	0,837	0	0	0
b)	0,354	0	0	—
2 a)	0,931	5,4	6,9	6,9
b)	0,593	0	0	—
3 a)	2,477	16,85	6,0	6,0
b)	1,713	1,5	0,9	—
4 a)	1,310	7,7	5,9	3,7
b)	1,574	3,5	2,2	—
5 a)	0,954	10,2	10,7	0
b)	0,616	6,68	11,0	—
6 a)	1,461	13,35	9,1	6,9
b)	1,684	4,0	2,2	—
7 a)	2,255	15,0	6,6	5,2
b)	1,662	2,3	1,4	—
8 a)	1,319	6,45	4,9	3,3
b)	1,272	2,00	1,6	—
9 a)	1,340	10,32	8,0	4,4
b)	0,926	3,00	3,6	—
10 a)	0,970	8,3	8,6	5,3
b)	0,616	1,95	3,2	—
11 a)	0,766	11,94	15,6	10,6
b)	0,688	3,45	5,0	—
12 a)	1,436	16,55	11,5	7,5
b)	1,492	6,10	4,0	—

a) = Ringer-Leber. b) = gleich untersuchte Leber.

präformierter Zucker, obwohl in begrenzter Menge — von 1,4 bis 5 ‰ — vor. Ausnahmsweise wird hier der Zucker vermißt.

Es ist weiter interessant, konstatieren zu können, daß die neugebildete Zuckerquantität, wenn man von der präformierten abstrahiert, sich innerhalb derselben Werte bewegt, wie im August und September. Die Zuckerbildung der Ringer-Leber stellt also eine recht konstante Größe dar.

Man muß sich dann fragen, wenn nun tatsächlich die Ringer-Leber lebendig ist, bildet dann diese neugebildete Zuckermenge ein sicheres Maß für die intravitale Zuckerbildung der Leber in situ? Diese Frage läßt sich nicht exakt beantworten. Dagegen kann man mit einiger Wahrscheinlichkeit die Antwort geben: Beim Vergleich des präformierten und

---

[1]) Summe des Zuckers in Leber und Ringer-Lösung.

neugebildeten Zuckers wird es ersichtlich, daß der Unterschied nicht sehr groß ist. Bedenkt man, daß die Leberlappen in Ringer-Lösung mehrere — 8 bis 10 — Stunden bei Zimmertemperatur überlebt haben, so ist die Neubildung eher geringer, als man erwarten könnte. Bei der Leber in situ wird der gebildete Zucker sofort entfernt.

Auf der anderen Seite persistiert der Leberzucker mehrere Monate als Glykogen. Man kann den Glykogengehalt grob auf etwa 200 ‰ schätzen (zwei Bestimmungen an Froschleber) und die Zuckerbildung auf 6 ‰. Im Laufe eines Monats müßte also bei überlebender Leber das Leberglykogen erschöpft sein, was also intra vitam nicht zutrifft.

Man muß auch daran erinnern, daß die überlebende Leber das Pankreashormon entbehrt und folglich schon a priori pankreasdiabetisch sein muß, wenn, wohl zu bemerken, der Pankreasdiabetes allein dadurch konstituiert wird. Dies ist jedoch keineswegs a priori abgemacht, denn man kann sich auch vorstellen, daß das Pankreashormon einem anderen erregenden Faktor (nicht Adrenalin) entgegenwirkt. Fehlt dieser Faktor, so bleibt die Gegenwart des Pankreas ganz gleichgültig. Auf der anderen Seite wäre denkbar, daß bei Kaltblütern das in der Leber schon befindliche Hormon für 8 bis 10 Stunden ausreiche und daß folglich der Diabetes sich hier langsamer entwickelt. In den folgenden Versuchen werden diese Verhältnisse experimentell näher erörtert.

Es wurden 2 Versuchsserien an Fusca angestellt. In der ersten Serie wurde an Fusca das Pankreas exstirpiert und erst nach 24 Stunden wurde der Blutzuckergehalt bestimmt. Gefunden in 3 Versuchen: 1. 0,06 %, 2. 0,062 bis 0,072 %, 3. 0,066 bis 0,072 %. Der normale Blutzuckergehalt entspricht 0,03 bis 0,04 % (die Pankreasexstirpation wurde am 5. bis 6. IX. ausgeführt, nach Aufenthalt der Tiere einige Tage bei 18°). Schon nach 24 Stunden kommt also eine deutliche, obwohl nicht sehr große Hyperglykämie vor, ein Zeichen, daß das Hormon schon fehlt. Auf der anderen Seite bewirkte eine Adrenalininjektion von 0,5 mg am 2. bis 5. IX. Steigerung des Blut-

[1]) Schließlich kann man sich vorstellen, daß das Pankreashormon überhaupt nichts mit der Leber zu tun hat, sondern in irgendeiner anderen Weise (z. B. auf andere Organe) reagiert.

zuckergehaltes auf 0,08 bis 0,085 % und 0,12 bis 0,13 % (auch an Fusca). Zweitens wurde die Zuckerbildung dieser pankreasdiabetischen Leber in Ringer-Lösung untersucht. Es wurden gefunden: 1. 3,8 ‰, 2. 5,5 ‰ und 3. 8,6 ‰ Zucker — durchaus normale Werte.

In der zweiten Versuchsserie wurde Pankreas mit dem einen Leberlappen zusammen exstirpiert[1]) und in Ringer-Lösung übergeführt. Der zweite Lappen bildete die Kontrolle ohne Pankreas. In einem Versuche lieferte die Pankreasleber 10,7 ‰ Zucker, die Kontrolle 13,5 ‰; in dem zweiten Versuche der Pankreaslappen 9,4 ‰, die beiden Kontrollen 10,2 und 8 ‰. Die Versuche wurden im Dezember an Fusca angestellt.

Die Gegenwart von Pankreas ist also durchaus indifferent. Da nun aber die Lebern schon von vornherein pankreasdiabetisch waren und trotzdem nur die „normale" Zuckerbildung zeigten, so liegt die Folgerung auf der Hand, daß auch die „normalen" Lebern mit derselben Zuckerbildung wahrscheinlich eine gegen die Norm vermehrte Zuckerbildung zeigen. Hiergegen spricht aber entschieden der Versuch 1, in dem kein Zucker gebildet wurde. In anderen nicht wiedergegebenen Versuchen (vgl. S. 64) wurden nur Spuren von Zucker nachgewiesen. Wenn nun tatsächlich die Zuckerbildung ohne Pankreas bisweilen fehlen kann, dürfte ein Pankreasdiabetes auch sonst unwahrscheinlich sein, da kein Grund vorliegt, anzunehmen, daß der Mangel an Pankreashormon nur bisweilen zum Diabetes der überlebenden Leber führt.

Die Wahrscheinlichkeit spricht also dafür, daß die Zuckerbildung der Leber eine normale und keine pathologische ist, obwohl man annehmen muß, daß der exakte Beweis hierfür noch fehlt. Diese Eventualität kann jedoch nicht die folgenden Ergebnisse erschüttern, vielleicht aber die Schlußfolgerungen etwas modifizieren. Wenn ich im folgenden von dieser Möglichkeit eines Pankreasdiabetes absehe, ist der Grund hierfür, daß ich die Ergebnisse so übersichtlich wie möglich darzustellen wünsche; deswegen mache ich hier ein für allemal auf diese recht unwahrscheinliche Möglichkeit aufmerksam.

Stimmt man der Auffassung bei, daß das Pankreas für die überlebende Froschleber entbehrlich ist, während die Pan-

---

[1]) Ein Zweig des Pankreas ist mit der Leber bis an die Gallenblase verwachsen.

kreasexstirpation beim Tier zum Diabetes führt, so scheint die Folgerung naheliegend, daß das Hormon auf einen zuckerbildenden Faktor, der bei der überlebenden Leber fehlt, hemmend wirkt.

5. Der Mechanismus der Zuckerbildung bei der überlebenden Froschleber.

Wie in der Einleitung erwähnt, hat man mit drei Möglichkeiten zu rechnen: 1. die Blutdiastase, die in die Leberzellen einwandert, 2. eine protoplasmatische, nicht näher definierte Fähigkeit der lebendigen Leberzellen und 3. eine Enzymwirkung. Im folgenden sollen diese drei Möglichkeiten experimentell geprüft werden, indem mit der Blutdiastase angefangen werden soll.

A. Die Blutdiastase.

Die erste Frage ist also: Ist die Blutdiastase für die Zuckerbildung der überlebenden Leber verantwortlich? Zwei Möglichkeiten sind denkbar. Entweder wird die Diastase von den unversehrten Leberzellen aufgenommen, oder es gehen die zentralen Leberzellen wegen ungenügender Sauerstoffzufuhr unter (nur die peripheren Zellen sollten demnach überleben); das Glykogen kommt also mit der Diastase in Berührung. Diese Fragen lassen sich durch Untersuchung der von Blut befreiten Leberlappen erledigen. Das Blut wurde mittels Durchspülung mit isotonischer Ringer-Lösung von Aorta und Porta (bei den isolierten Lappen) entfernt. Inwieweit die Lymphe auch hierdurch vollständig entfernt wird, ist schwer zu sagen und unmöglich zu beweisen. Ich muß deswegen diese Eventualität offen lassen. Die Ergebnisse sind in der vorstehenden Tabelle IV zusammengestellt.

Die angeführten Versuche zeigen ganz evident, daß die Zuckerbildung in der Ringer-Leber nach Entfernung des Blutes in demselben Umfang stattfindet wie bei der Gegenwart von Blut. Diese Tatsache läßt sich außerdemin einer vielleicht noch überzeugenderen Weise illustrieren. In der folgenden Tabelle V (S. 64) sind einige Versuche zusammengestellt, in denen der eine Lappen vor der Durchspülung unterbunden worden war. Der Lappen war also bluthaltig, die Kontrollen blutleer. (Die Werte bei dem bluthaltigen Leberlappen sind durch fetten Druck hervorgehoben.)

Tabelle IV.

a) Esculenta.

Versuch Nr.	Datum	Gewicht des Leberlappens g	Zuckermenge a) der Ringer-Lösung mg	Zuckermenge b) des Lappens mg	Summe des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz des Zuckers in den verschiedenen Lappen a) absolut ‰	Differenz des Zuckers in den verschiedenen Lappen b) relativ %
1	21. X.	0,360	2,4	1,60	3,4	9,5	—	—
2	30. „	1,135	7,55	2,0	9,55	8,4	—	—
3	31. „	0,837	4,2	0	4,2	5,0	—	—
4	1. XI.	1,167	6,1	2,25	8,35	7,1	—	—
5	8. „	0,622	2,3	1,90	4,2	6,9	—	—
6	9. „	2,474	5,7	11,15	16,85	6,8	—	—
7	9. „	0,930	4,0	3,5	7,5	8,1	—	—
		1,066	4,9	5,0	9,9	9,4	1,3	11,6
8	9. „	0,442	1,85	3,0	4,85	11,0	—	—
9	11. „	1,190¹)	4,7	2,7	7,4	6,2	—	—
		1,055²)	2,3	2,7	5,0	4,7	—	—
		0,659³)	2,2	2,0	4,2	6,3	1,6	34,0
10	11. „	0,570	2,85	1,50	4,35	7,6	—	—
11	12. „	0,855	2,70	4,0	6,70	8,0	—	—
12	25. „	0,527	4,60	2,40	7,00	13,3	—	—
13	28. „	0,727	1,95	6,25	8,15	11,3	—	—
14	28. „	1,177	11,9	6,5	18,4	15,6	—	—
15	1. XII.	1,513	9,5	9,38	18,88	12,4	—	—
16	2. „	1,767	6,48	14,18	20,66	11,7	—	—
17	4. „	0,757	1,20	5,55	6,75	9,0	—	—
		1,197	3,0	10,00	13,0	11,0	2,0	22,2
18	5. „	1,288	1,87	8,65	10,52	8,1	—	—
19	9. „	0,615	1,65	5,55	7,15	11,6	—	—
		0,858	1,50	6,25	7,75	9,1	2,5	26,5
20	11. „	1,174	5,3	6,0	11,3	9,6	—	—
		0,796	3,8	2,5	6,3	8,0	1,6	20,0
21	12. „	1,178	6,37	5,10	11,47	9,7	—	—
		1,123	3,82	4,05	7,87	7,0	2,7	38,6
22	12. „	1,082	2,30	11,0	13,30	12,3	—	—
		0,696	2,30	5,5	8,10	11,7	0,6	5,1
23	13. „	1,400	3,10	9,25	12,35	8,8	—	—
24	14. „	3,036	13,9	9,0	22,9	7,5	—	—
		1,412	4,23	6,20	10,43	7,4	0,1	1,3
25	15. „	0,796	4,42	4,25	8,67	10,9	—	—
		0,596	2,00	2,50	4,50	7,6	3,3	43,4
26	16. „	0,921	6,10	4,58	10,68	11,6	—	—
27	20. „	1,021	5,0	7,75	12,75	12,5	—	—
		0,761	4,73	5,50	10,23	13,4	0,9	6,7
28	22. „	0,965	8,9	3,0	6,9	7,0	—	—
29	27. „	1,771	12,7	12,0	24,7	14,0	—	—
30	27. „	0,915	9,4	6,6	16,0	17,5	—	—

¹) 100 ccm Ringer-Lösung + 0,1 ccm 26 % NaCl.
²) 80 ccm Ringer-Lösung + 20 ccm H_2O.
³) 100 ccm Ringer-Lösung.

Tabelle IV (Fortsetzung).
b) Fusca.

Versuch Nr.	Datum	Gewicht des Leberlappens g	Zuckermenge a) der Ringer-Lösung mg	Zuckermenge b) des Lappens mg	Summe des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz des Zuckers in den verschiedenen Lappen a) absolut ‰	Differenz des Zuckers in den verschiedenen Lappen b) relativ %
31	5. IX.	0,574	2,8	1,5	4,3	7,5	—	—
32	9. „	0,680	2,5	1,5	4,0	6,0	—	—
33	10. „	0,386	1,3	1,0	2,3	6,0	—	—
34	11. „	0,456	1,5	1,0	2,5	5,5	—	—
35	11. „	0,547	2,0	1,0	3,0	5,5	—	—
36	12. „	0,446	2,0	1,0	3,0	6,7	—	—
37	17. „	0,720	1,45	2,0	3,45	4,8	—	—
38	18. „	1,000	3,1	3,5	6,6	6,6	—	—
39	20. „	0,475	1,05	1,65	2,70	5,7	—	—
40	21. „	0,601	1,10	1,10	2,20	3,7	—	—
41	24. „	0,883	0,86	1,15	1,95	2,6	—	—
42	27. „	0,814	3,15	1,50	4,65	5,3	—	—
43	7. X.	0,556	2,75	0,90	3,65	7,1	—	—
44	8. „	0,609	3,10	1,75	4,85	8,0	—	—
45	8. „	0,458	2,9	0,60	3,50	7,6	—	—
46	9. „	0,450	1,45	0,80	2,25	5,4	—	—
47	10. „	0,712	5,30	1,0	6,30	8,9	—	—
48	11. „	0,814	4,40	1,7	6,10	7,7	—	—
49	17. „	0,318	2,80	0,70	3,57	11,0	—	—
50	18. „	0,445	2,00	0,35	2,35	8,9	—	—
51	18. „	0,588	1,90	0,80	2,70	4,8	—	—
52	19. „	0,525	2,95	1,0	3,95	7,5	—	—
53	25. „	0,578	2,25	0,4	2,65	4,6	—	—
54	28. „	0,620	1,85	1,10	2,95	4,8	—	—
55	31. „	0,355	2,25	1,00	3,25	9,1	—	—
56	31. „	0,308	1,25	2,25	3,50	11,4	—	—
57	2. XI.	0,390	1,85	3,00	4,85	11,8	—	—
58	5. „	0,486	1,90	1,75	3,65	7,5	—	—
		0,490	2,40	1,30	3,70	7,6	0,1	1,3
59	19. „	0,227	1,05	1,06	2,05	9,0	—	—
		0,307	1,30	1,86	3,16	10,3	1,3	14,4
60	22. „	0,468	3,15	4,50	7,65	16,3	—	—
61	26. „	0,305	1,80	1,00	2,80	9,1	—	—
		0,437	2,10	1,75	3,85	8,8	0,3	3,3

Es kann nach dem Angeführten kein Zweifel darüber herrschen, daß die Blutdiastase für die Zuckerbildung der Leber völlig gleichgültig ist. Diese Möglichkeit trifft also nicht zu.

Diese Übereinstimmung zwischen den blutfreien und bluthaltigen Lebern zeigt sich auch betreffs der Differenz zwischen der Zuckerbildung in den verschiedenen Lappen derselben Leber. Bei den bluthaltigen Lebern war die durchschnittliche Differenz 1 ‰, bzw. 16 %, hier als Durchschnitt von 14 ähnlichen Versuchen **1,4 ‰** und **17 %**.

Tabelle V.

Versuch Nr.	Gewicht des Unterlappens g	Summe des Zuckers mg	Zucker °/oo	Anmerkungen
1	0,950	11,5	**12,1**	Esculenta
	1,112	13,1	11,8	
2	0,238	3,20	**13,4**	Fusca
	0,227	2,05	9,0	
	0,307	3,10	10,3	
3	0,302	4,55	**14,9**	do.
	0,468	7,65	16,3	
4	0,357	2,85	**8,0**	do.
	0,305	2,80	9,1	
	0,437	3,85	8,8	

Weiter findet man denselben Unterschied der Zuckerbildung in den Monaten September-Oktober und November-Februar. Da hier die Versuche ziemlich gleichmäßig in den Monaten September bis Dezember ausgeführt sind, ist es möglich, zuverlässige Durchschnittswerte aufzustellen. Im September sind an Fusca **12** Versuche ausgeführt worden mit durchschnittlich **5,5** °/oo Zucker. Im Oktober an Fusca **14** Versuche und durchschnittlich **7,7** °/oo Zucker. Im November nur **5** Versuche mit durchschnittlich **10,8** °/oo Zucker. Dagegen sind im November an Esculenta **14** Versuche ausgeführt mit **9,0** °/oo Zucker, im Dezember ebenfalls **14** Versuche mit **11,2** °/oo Zucker. Die Differenzen zwischen den verschiedenen Monaten liegen weit höher als die durchschnittliche Differenz zwischen den verschiedenen Leberlappen. Die Ziffern zeigen also ganz exakt, daß die Zuckerbildung der Froschleber von September ab immer in die Höhe steigt, was ganz mit der Beobachtung übereinstimmt, daß der präformierte Zuckergehalt der Leber in dieser Zeit immer größer gefunden wird.

Die Versuche mit Fusca im September können weiter mit Wahrscheinlichkeit dartun, daß das Pankreas entbehrlich ist. Eine Zuckerbildung von 2 bis 5 °/oo im Verlaufe von 8 bis 10 Stunden spricht entschieden gegen das Vorkommen eines Pankreasdiabetes. (Dies wird noch viel überzeugender aus den Befunden bei der Adrenalinvergiftung hervorgehen.)

B. Protoplasmatische Tätigkeit oder Enzymwirkung.

Die zwei übrigen Möglichkeiten der Zuckerbildung waren protoplasmatische Tätigkeit oder Wirkung einer echten

Leberdiastase. Von diesen kommt für das Experiment nur die letzte Möglichkeit in Betracht. Für den Fall, daß man eine Enzymwirkung ausschließen kann, muß man zu der Erklärung einer „protoplasmatischen Tätigkeit" seine Zuflucht nehmen, womit freilich nichts Positives gesagt wird.

Wenn man zu der Frage über das Vorkommen einer Leberdiastase als Ursache der vitalen Zuckerbildung bei der überlebenden Froschleber Stellung nehmen soll, so muß man zuerst das Verhältnis zwischen der vitalen und postmortalen Zuckerbildung auseinander setzen, was eine einfache Aufgabe ist: der eine Leberlappen überlebt in Ringer-Lösung, der zweite wird als Brei mit Wasser versetzt, wodurch die Leberzellen sicher getötet werden. Beim Vergleich der Zuckerbildung nach beendigter Versuchszeit muß ein eventueller Unterschied hervortreten. Die Ergebnisse sind in der Tabelle VI zusammengestellt.

Tabelle VI.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Summe des Zuckers mg	Zucker ‰
	a) Esculenta.			
1	Ringer-Lösung Brei 20 ccm H_2O	2,255 1,662	15,0 87,0	6,6 52,4
2	Ringer-Lösung Brei 20 ccm H_2O	1,319 1,272	6,45 35,2	4,9 27,6
3	Ringer-Lösung Brei 20 ccm H_2O	0,600 0,871	4,4 24,8	7,5 28,5
4	Ringer-Lösung Brei 20 ccm H_2O	1,310 1,231	6,0 31,8	6,1 25,8
5	Ringer-Lösung Brei 20 ccm H_2O	1,522 1,594	12,6 51,6	8,3 32,0
6	Ringer-Lösung Brei 20 ccm H_2O	1,461 1,684	13,35 45,0	9,1 26,7
7	Brei 20 ccm H_2O	0,958	21,5	22,4
	b) Fusca.			
8	Brei 10 ccm H_2O	0,430	3,5	8,1
9	Brei 10 ccm H_2O	0,412	5,0	12,1
10	Brei 10 ccm H_2O	0,662	5,75	8,7

Aus den Versuchen an Esculenta geht hervor, daß die Leber als Brei von 300 % bis 1000 % mehr Zucker als die Ringer-Leber bildet, eine ganz gewaltige Steigerung der Zuckerbildung post mortem. Diese Erscheinung ist unabhängig von der Jahreszeit. (Versuch Nr. 7 wurde im September angestellt.)

Es zeigt sich weiter ein sehr markanter Unterschied zwischen Esculenta- und Fusca-Leber, welch letztere nur recht unbedeutend mehr Zucker post mortem abspaltet, als die Ringer-Leber gewöhnlich bildet.

So überzeugend auch die Versuche beim ersten Anblick erscheinen, sie beweisen nicht sehr viel betreffs der postmortalen Zuckerbildung der Lebern allein. Die Lebern waren bluthaltig. Die Blutdiastase ist also jedenfalls zum Teil für die Zuckerbildung dieser toten Leberlappen verantwortlich. Aber eben aus diesem Grunde sind die Versuche interessant, indem sie zeigen, daß die überlebenden bluthaltigen Froschlebern, weil sie dieselbe Quantität Zucker wie die blutfreien bilden, undurchlässig für die Blutdiastase sein müssen und also lebendig sind.

Der Unterschied zwischen Esculenta und Fusca läßt sich dann wahrscheinlich aus einem verschiedenen Gehalt des Blutes an Diastase erklären. Diese Möglichkeit, die a priori wahrscheinlich ist, trifft auch zu. Allerdings hat es sich herausgestellt, daß das Blut der Fusca reichliche Diastasemengen enthält. Bei dem Versuch Nr. 10 wurde 1 ccm Blut mit 10 ccm 1 %iger Stärkelösung dieselbe Zeit digeriert: gefunden **40** mg Zucker. 0,1 ccm Speichel mit 10 ccm Stärkelösung lieferte 32,5 mg in derselben Zeit. In einem anderen Versuch lieferten **0,150** g Blut mit 10 ccm Stärkelösung **5,15** mg Zucker. In einem Versuch an Esculenta lieferten aber **0,197** g Blut **20,6** mg Zucker. Das Esculentablut ist bedeutend reicher an Diastase als Fuscablut.

Wenn die Blutdiastase eine Fehlerquelle bei der Beurteilung der postmortalen Zuckerbildung der Froschleber bildet, war es notwendig, entsprechende Versuche mit blutfreien Lebern anzustellen. Das Blut wurde durch Durchströmung mit Salzlösungen entfernt. Die folgende Tabelle VII liefert die Versuchsergebnisse.

Tabelle VII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Anmerkungen
	a) Esculenta.				
1	Durchströmung m. Ringer-Lsg. Brei H_2O	0,814	5,0	6,1	Dchstrmgsflüssigk.: Ringer-Lsg.
	Nicht durchströmter Brei H_2O	0,958	21,5	22,4	Vgl. Tab. VI, Nr. 7
2	Durchströmung m. Ringer-Lsg. Brei H_2O	0,525	6,0	11,4	
3	Dchstrmg. 100 ccm Ringer-Lsg.	0,588	2,70	4,8	
	" Brei H_2O	0,927	10,30	11,1	
4	" 100 ccm Ringer-Lsg.	0,360	3,40	9,4	
	" Brei H_2O	0,660	8,00	12,1	
5	" 100 ccm Ringer-Lsg.	0,556	3,65	7,1	
	" Brei H_2O	0,352	7,20	17,0	
6	" 100 ccm Ringer-Lsg.	2,474	16,85	6,8	
	" Brei H_2O	1,713	20,00	11,6	
7	" 100 ccm Ringer-Lsg.	1,135	11,55	8,4	Dchstrmgsflüssigk. is. NaCl-Lsg.
	" Brei H_2O	0,553	14,70	26,6	
8	" 100 ccm Ringer-Lsg.	0,931	6,9	7,4	Dchstrmg. m. isot. Kaliumäthylsulfatlösung
	" Brei H_2O	0,591	11,15	18,8	
9	" 100 ccm Ringer-Lsg.	1,310	7,7	5,9	do.
	" Brei H_2O	1,574	21,0	13,3	do.
10	" 100 ccm Ringer-Lsg.	0,527	7,0	13,3	Dchstrmg. mit Ringer-Lösung
	" Brei H_2O	0,521	9,0	17,3	
11	" 100 ccm Ringer-Lsg.	0,855	6,95	8,0	do.
	" Brei H_2O	0,811	11,50	14,2	do.
12	" 100 ccm Ringer-Lsg.	0,954	10,2	10,7	Dchstrmg. m. isot. Rohrzuckerlösg.
	" Brei H_2O	0,616	4,05	10,8	
13	" 100 ccm Ringer-Lsg.	0,622	4,20	6,9	do.
	" Brei H_2O	0,505	3,0	5,9	do.
14	" Brei H_2O	0,720	6,25	8,7	do.
	b) Fusca.				
15	Nicht durchströmter Brei H_2O	0,430	3,50	8,1	Vgl. Tab. VI, Nr. 8
	Durchströmter Brei H_2O	0,452	2,50	5,5	
17	Nicht durchströmter Brei H_2O	0,412	5,00	12,1	Vgl. Tab. VI, Nr. 9
	Durchströmter Brei H_2O	0,495	2,75	5,0	
18	Durchströmung Brei H_2O	0,577	2,5	4,5	
19	" Brei H_2O	0,366	1,85	5,0	
20	" Brei H_2O	0,394	3,5	8,9	

Tabelle VII (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Anmerkungen
21	Dchstrmg. 100 ccm Ringer-Lsg.	0,680	4,0	6,0	
	„ Brei H_2O	0,585	2,75	4,7	
22	„ 100 ccm Ringer-Lsg.	0,386	2,3	6,0	
	„ Brei H_2O	0,402	1,5	2,5	
23	„ 100 ccm Ringer-Lsg.	0,720	3,45	4,8	
	„ Brei H_2O	0,772	3,50	4,5	
24	„ 100 ccm Ringer-Lsg.	0,715	2,85	4,0	
	„ Brei H_2O	0,552	1,50	2,7	
25	„ 100 ccm Ringer-Lsg.	0,574	4,3	7,5	
	„ Brei H_2O	0,486	4,2	8,6	
26	„ Brei H_2O	0,552	3,5	6,3	
27	„ Brei H_2O	0,340	2,90	8,5	

Nr. 15 bis 24, 26 bis 27 sind mit Ringer-Lösung durchspült, Nr. 25 mit Phosphatlösung.

Aus den angeführten Versuchen ist ersichtlich, daß die von Blut befreite Leber als Brei viel weniger Zucker bildet als der bluthaltige Leberbrei. An Fusca findet man sogar identische Werte für die Zuckerbildung der Ringer-Leber und des Leberbreies. An Esculenta sind die Durchschnittswerte 13,5 ‰ gegen 30,1 ‰ bei dem bluthaltigen Leberbrei.

Freilich ist hier die Zuckerbildung beim Leberbrei größer als bei der Ringer-Leber, und besonders in einigen Versuchen Nr. 5, 7 und 8 ist die Zuckerbildung sogar sehr groß. Nichtsdestoweniger ist die Folgerung auch hier berechtigt, daß der Leberbrei und die Ringer-Leber übereinstimmen. Nach der Durchspülung von der Aorta aus, bis das Spülwasser farblos abgeht, kann man sehr oft später von der Porta aus bei den einzelnen Leberlappen noch verhältnismäßig viel Blut entfernen. Eben in den Versuchen mit der größten Zuckerbildung, z. B. Nr. 7, wurde die Leber nur von der Aorta aus durchspült. Hierzu kommt auch die Lymphe, die diastasehaltig ist. Daß die Ergebnisse bei Fusca viel regelmäßiger sind, findet wohl dadurch seine Erklärung, daß das Fuscablut weniger Diastase als das

Esculentablut enthält. Ein wenig Blut kann folglich die Ergebnisse kaum beeinflussen. Da nun schließlich auch bei Esculenta mehrere Versuche (Nr. 1, 4, 10 bis 12) mit der Ringer-Leber recht übereinstimmende Zuckerbildung aufweisen, sind diese Versuche beweisend. Die postmortale Zuckerbildung des Leberbreies entspricht also unter zweckmäßigen Versuchsbedingungen der Zuckerbildung der überlebenden Ringer-Leber, was in der Tat sehr für die Möglichkeit spricht, daß die Zuckerbildung in beiden Fällen enzymatischer Natur ist.

Eine exakte Entscheidung hierüber dürfte durch Versuche an Froschlebern möglich sein, wenn man die exstirpierte Leber momentan, ohne daß sekundäre Veränderungen eintreten, töten könnte. Allein beim Absterben ist es denkbar, daß die Leber Enzyme bilden kann. Eine neue Enzymbildung von totem Material ist ausgeschlossen. Solche Versuche lassen sich auch in der Weise ausführen, daß die Leber in Überschuß von Alkohol übergeführt und hier augenblicklich mit einem Pistill zerstoßen wird. Hierdurch werden die Zellen augenblicklich getötet und die Kolloide entwässert. Die Möglichkeit einer Enzymbildung beim Absterben wird ausgeschlossen. Kann man also nachher eine Diastase nachweisen, so muß sie entweder präformiert in der lebendigen Leber vorkommen oder aber in der schon toten Leber gebildet worden sein, im letzteren Falle aus einem vorgebildeten Zymogen. Prinzipiell bedeutet also der Nachweis einer Diastase nach Alkoholbehandlung, daß die-

Tabelle VIII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	Brei H_2O	1,723	47,0	26,6
	Alkohol H_2O	2,083	22,4	10,8
2	a) Brei H_2O	0,800	22,2	27,8
	b) Alkohol H_2O	0,900	9,4	9,5
	c) Alkohol H_2O	0,730	8,2	11,2
3	Brei H_2O	0,862	29,8	34,3
	Alkohol H_2O	1,000	10,0	10,0
4	Brei H_2O	0,814	5,0	6,1
	Alkohol H_2O	0,700	2,5	3,6

selbe — als Vorstadium oder fertiges Enzym — präformiert in der Leber vorkommt. Das Ausbleiben einer Diastasewirkung bedeutet umgekehrt, daß das Enzym erst beim Absterben gebildet worden ist. Tatsächlich sprachen auch die ersten an Esculenta angestellten Versuche für die letztere Eventualität, wie die Tabelle VIII zeigt.

Die ersten drei Versuche sind mit bluthaltigen Lebern, der letzte mit blutfreier Leber ausgeführt. Sie zeigen sämtlich nach der Alkoholbehandlung eine ganz bedeutende Verminderung der Zuckerproduktion. Trotzdem sind die Versuche nicht beweisend. Die Möglichkeit bleibt, daß der Alkohol, der doch nicht die Diastasewirkung quantitativ verhindert hat, nicht die Fermentbildung aufhebt, sondern vielmehr einen oder mehrere Aktivatoren der Diastase ausgelöst und entfernt hat, was auch die Experimente zeigten:

In Versuch Nr. 2 waren die Leberbreie in 20 ccm Wasser aufgeschwemmt. Die Rückstände der Proben b) und c) nach der Titration — wozu 10 ccm herausgenommen wurden — wurden teils mit 10 ccm H_2O (b), teils mit Alkoholextrakt von b) in 10 ccm H_2O (c) versetzt. Nach einer fortgesetzten Digestion von 12 Stunden zeigte Probe b) **7,8** mg und Probe c) **17,0** mg Zucker entsprechend **8,7**$^0/_{00}$ und **23,3**$^0/_{00}$. Der Alkoholextrakt von c) enthielt **3,7** mg Zucker.

Der Versuch zeigt ganz exakt, daß der Alkoholextrakt Aktivatoren der Diastase enthält. Weitere Belege hierfür sind überflüssig anzuführen.

Fragt man nach der Natur dieses Aktivators, so liegt es nahe, an die Salze und besonders an das Kochsalz zu denken, da bekanntlich dieses Salz ein kräftiger Aktivator des Ptyalins ist. Besonders habe ich[1]) bewiesen, daß ein von Kochsalz vollständig befreiter Speichel nur äußerst geringe diastatische Wirkung zeigt, während ein ganz geringer Zusatz davon (1:100000 bis 1:10000) sehr starke Reaktivierung bewirkt. In einem Versuch wurden z. B. ohne NaCl **2,4** mg und mit NaCl 1:10000 **28,3** mg Zucker gefunden. Weiter haben mehrere Forscher nachgewiesen, daß eine Alkoholbehandlung das Ptyalin nur unvollständig zu inaktivieren vermag, wahrscheinlich aus dem

---

1) Bang, diese Zeitschr. **32**, 417, 1911.

Grunde, weil das Ptyalin als NaCl-Verbindung niedergeschlagen wird. Ebenso verhält sich das Ptyalin bei der Dialyse. Setzt man aber ein wenig Phosphat hinzu, so dialysiert sowohl das Phosphat wie das Kochsalz und das Ptyalin wird inaktiviert (Bang).

Im folgenden soll nachgewiesen werden, daß das Kochsalz ebenfalls ein Aktivator der Blut- und Leberdiastase ist.

Tabelle IX.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	Brei H_2O	1,723	47,0	26,6
	Alkohol H_2O	2,083	22,4	10,8
	Alkh. 0,7% NaCl-Lsg.	2,763	58,0	21,4
2	Brei H_2O	0,685	19,0	27,3
	Alkh. 0,7% NaCl-Lsg.	1,218	42,4	34,7
3	Brei H_2O	1,475	35,0	23,6
	Alkh. 0,7% NaCl-Lsg.	1,075	30,0	28,0
4	Brei H_2O	1,310	27,8	21,2
	Alkh. 0,7% NaCl-Lsg.	0,875	25,4	28,8
5	Alkohol H_2O	0,850	8,1	9,5
	„ 1:200000 NaCl-Lsg.	0,920	16,8	18,8
	„ 1:2000 NaCl	1,025	17,9	17,4

In diesen Versuchen mit bluthaltigen Lebern wurde durch NaCl eine vollständige Reaktivierung erzielt. Aus Versuch Nr. 5 ist ersichtlich, daß eine sehr geringe Kochsalzlösung hierzu genügt, genau wie beim Ptyalin. Aller Wahrscheinlichkeit nach betrifft die Reaktivierung sowohl die Blut- wie die Leberdiastase.

Und daß tatsächlich die hier vorzugsweise interessierende Leberdiastase durch Kochsalz reaktiviert werden kann, zeigen die folgenden Versuche (Tab. X) mit blutfreien Lebern.

Die Leberdiastase wird also durch Zusatz von NaCl reaktiviert. In den Tabellen II und III ist die Zuckerbildung der überlebenden Froschleber erwiesen. Aus den Tabellen VIII bis X geht hervor, daß die Leber nach momentaner Abtötung durch Alkohol eine Diastase enthält. Schließlich ist in der Tabelle VII die Übereinstimmung zwischen der vitalen und postmortalen — sicher enzymatischen — Zuckerbildung nach-

Tabelle X.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht d. Lappens g	Summe d. Zuckers mg	Zucker ‰	Anmerkungen
1	Durchströmung Brei H_2O	0,533	14,7	26,6	
	" Alkohol 0,7 %ige NaCl-Lsg.	1,071	33,0	30,8	vgl. Tab. VII, Nr. 7
2	" Brei H_2O	0,525	6,0	11,4	
	" Alkohol 0,3 %ige NaCl-Lsg.	0,783	21,0	26,8	
3	" Brei H_2O	0,535	7,5	14,0	
	" Alkohol 0,3 %ige NaCl-Lsg.	0,642	11,0	17,1	
4	" Brei H_2O	0,660	8,0	12,1	
	" Alkohol 0,3 %ige NaCl-Lsg.	0,710	18,0	25,4	
5	" Alkohol H_2O	0,750	5,0	6,7	
	" Alkohol 0,15 %ige NaCl-Lsg.	1,100	30,5	27,7	
6	" Alkohol H_2O	0,745	11,25	15,1	
	" Alkohol 0,15 %ige NaCl-Lsg.	1,370	38,5	28,1	
7	" Brei H_2O	0,616	4,05	6,6	
	" Alkohol 0,15 %ige NaCl-Lsg.	0,940	16,2	17,2	
8	" Brei H_2O	0,720	6,25	8,7	
	" Alkohol 0,15 %ige NaCl-Lsg.	1,774	35,8	20,2	

In Nr. 1 bis 4 mit Ringer-Lösung, in Nr. 5 bis 8 Durchspülung mit Rohrzuckerlösung.

gewiesen. Das Versuchsmaterial erlaubt ganz exakt die Folgerung, daß die überlebende Leber von Esculenta ein diastatisches Enzym enthält, und daß diese Diastase aller Wahrscheinlichkeit nach die vitale Zuckerbildung bewirkt.

Ein Vergleich zwischen den obigen alkoholbehandelten und nicht alkoholbehandelten Lebern wird außerdem eine wichtige Tatsache erweisen: Durch Zusatz von Kochsalz wird nicht allein die ursprüngliche Zuckerbildung erreicht, sondern stark vermehrt. Die Durchschnittswerte sind ohne Alkohol **13 ‰**, mit Alkohol und nachfolgendem Zusatz von NaCl **24,0 ‰**, also beinahe 100 ‰ mehr. Diese absolut konstante Erscheinung muß entweder dadurch verursacht sein, daß die Leber an sich nicht genügend Kochsalz enthält oder auch, daß der Alkohol nicht allein die Aktivatoren, sondern auch Hemmungskörper entfernt hat. Daß tatsächlich die erste Eventualität in Betracht kommt, geht aus den Versuchen der Tabelle X hervor.

In den Versuchen Nr. 1 bis 4 wurde die Leber mit Ringer-Lösung durchspült und das Blut folglich durch Salzlösung ersetzt. Hier war der Umsatz 18 °/₀₀. In den Versuchen 5 bis 8 wurde das Blut mit Rohrzuckerlösung versetzt. Die Zuckerbildung war 9 °/₀₀, genau die Hälfte. Diese Ergebnisse werden durch die folgenden Versuche weiter festgestellt.

Tabelle XI.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker °/₀₀
1	Brei H_2O	0,720	6,25	8,7
	Brei 0,3 °/₀ige NaCl-Lsg.	1,112	15,4	13,8
	Alkohol 0,3 °/₀ige NaCl-Lsg.	1,774	35,8	20,2
2	100 ccm Ringer-Lösung	0,588	2,70	4,8
	Brei 0,3 °/₀ige NaCl-Lsg.	0,927	10,30	11,7
	Alkohol 0,3 °/₀ige NaCl-Lsg.	1,263	35,0	27,7
3	100 ccm Ringer-Lösung	0,855	6,95	8,0
	Brei H_2O	0,811	11,50	14,2
	Brei 0,3 °/₀ige NaCl-Lsg.	0,797	12,0	15,1
4	Brei H_2O	0,814	2,50	3,1
	Brei 0,3 °/₀ige NaCl-Lsg.	0,805	8,50	10,6

Sämtliche Lebern wurden mit Rohrzuckerlösung durchspült, in Versuch Nr. 3 jedoch nur von der Aorta aus.

Überall findet man nach Zusatz von Kochsalz einen größeren Umsatz als ohne Salz. Hieraus läß sich folgern, daß die Froschleber zwar Kochsalz, Aktivator neben der Diastase, enthielt, daß aber dasselbe nicht zu einer Optimalwirkung der Diastase genügte. Daß die Leber tatsächlich Kochsalz enthielt, zeigen die Gallenanalysen. Kochsalz ist ein konstanter Bestandteil der Galle. Die Leberzellen besitzen also das Vermögen, Kochsalz aufzunehmen und auszuscheiden. Es ist denkbar, daß sie zum Teil eben hierdurch ihre Diastase zu aktivieren oder inaktivieren vermögen. Es ist auch denkbar, daß das intracelluläre Kochsalz mit der Diastase in Verbindung treten kann oder nicht. Die mitgeteilten Versuche können hierüber nicht entscheiden. In der folgenden Abhandlung über den Diabetes der überlebenden Froschleber werden diese Fragen näher untersucht.

Die Versuche zeigen aber weiter, daß das Kochsalz allein nicht die Alkoholwirkung erklären kann. Nach der Alkoholbehandlung ist die reaktivierende Wirkung des Kochsalzes viel größer als vor derselben (vgl. auch Tabelle X). Der Alkohol muß demgemäß entweder Hemmungskörper entfernt oder auch solche unschädlich gemacht haben, z. B. durch Koagulation einiger hemmenden Kolloide. Daß die erste Eventualität allein in Betracht kommt, zeigen die folgenden Versuche.

Versuch 1.

Leber von Esculenta, von der Aorta und Porta aus mit Rohrzuckerlösung ausgespült. 1. 1,297 g in 20 ccm H_2O als Brei = 10 mg Zucker = 7,7‰. 2. 1,815 g in 18 ccm H_2O + 2 ccm 92%igen Alkohol als Brei = 20,0 mg = 11,0‰. 3. 1,215 g nach Behandlung mit Alkohol in 20 ccm H_2O + 0,1 ccm 26%iger NaCl-Lösung übergeführt = 36,0 mg = 28,7‰.

Versuch 2.

Leber von Esculenta, von der Aorta und Porta aus mit Rohzuckerlösung ausgespült. 1. 0,638 g nach Extraktion mit Chloroform in 10 ccm H_2O übergeführt = 18,5 mg Zucker = 29,0‰. 2. 0,527 g nach Extraktion mit Äther wurden 10 ccm H_2O zugesetzt = 15,0 mg = 28,3‰. 3) 0,445 g mit 10 ccm H_2O versetzt = 4,0 mg = 9,0‰ Zucker.

Von einer Koagulation kann hier keine Rede sein. Es existieren folglich in der Froschleber gewisse Hemmungskörper gegen die Leberdiastase, die durch Behandlung mit Alkohol, Äther und Chloroform entfernt werden können.

In den Chloroform-Ätherversuchen wurde kein Kochsalz zugesetzt. Dessenungeachtet wurde eine Vermehrung der Zuckerbildung von 300% gefunden, ein exakter Beweis, daß Hemmungskörper entfernt worden sind.

Man hat also Grund anzunehmen, daß diese Hemmungskörper Lipoide sind. Wahrscheinlich sind es aber keine Phosphatide, wie ein Versuch mit Aceton erwiesen hat.

Versuch 3.

Leber von Esculenta wie oben durchspült. 1. 1,400 g in 100 ccm Ringer-Lösung = 12,35 mg Zucker = 8,8‰; 2. 1,146 g nach Extraktion mit Aceton in 20 ccm H_2O + 0,1 ccm 26%ige NaCl-Lösung übergeführt = 52,5 mg = 45,0‰ Zucker.

Die Tatsache, daß Lipoidstoffe Hemmungskörper für Diastasen bilden, ist nicht neu. Unter anderen hat besonders

Lapidus[1]) für das Handelslecithin eine solche Hemmungswirkung nachgewiesen. Für die Leberdiastase der Warmblüter haben Starkenstein[2]) und ich gefunden, daß eine vorausgehende Alkoholbehandlung die Diastasewirkung vergrößert, was mit den obigen Befunden harmoniert.[3])

Wenn nun dies alles zutrifft, dürfte umgekehrt der Alkoholextrakt, zum Leberbrei gesetzt, die Hemmung ausüben können. Die folgenden Versuche können hierüber orientieren. Der Alkoholextrakt (AE) wurde entweder durch Ventilation (Nr. 1 und 2) eingetrocknet oder der Alkohol spontan beim Stehen verdampft. Die Lebern wurden mit Rohrzuckerlösung vollständig ausgespült.

Tabelle XII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht d. Lappens g	Menge d. Zuckers mg	Zucker ‰
1	a) Brei H_2O	0,535	7,5	14,0
	b) Alkohol 0,3%ige NaCl-Lösung	0,642	11,0	17,1
	c) Alkohol AE von b) 0,15%ige NaCl-Lsg.	0,520	6,5	12,0
2	a) Brei H_2O	0,745	11,25	15,1
	b) Alkohol 0,3%ige NaCl-Lösung	1,370	38,50	28,1
	c) Alkohol AE von b) 0,3%iger NaCl-Lsg.	1,185	37,50	31,7
3	a) Brei H_2O	0,750	5,0	6,7
	b) Alkohol 0,2%ige NaCl-Lösung	1,100	30,5	27,1
	c) Alkohol AE von b) 0,2%ige NaCl-Lsg.	0,930	30,0	32;2

Die Versuche zeigen, daß der Alkoholextrakt keine deutliche Hemmung ausübte, im Gegenteil, der Extrakt ist ganz indifferent. [Im Versuch Nr. 1 enthält c) nur die Hälfte des Kochsalzes wie b).] Dies stimmt auch sehr gut mit den Befunden bei den Reaktivierungsversuchen mit dem Alkoholextrakt überein.

Nun kann kein Zweifel darüber sein, daß die Alkohol-, Äther-, Chloroform- und Acetonversuche durchaus beweisend sind: Hemmungskörper werden dadurch entfernt. Wenn dessenungeachtet ein folgender Zusatz dieser Hemmungskörper ganz indifferent bleibt, so bedeutet das, daß nicht allein die

[1]) Lapidus, diese Zeitschr. 30, 39, 1910.

[2]) Starkenstein, ebenda 24, 191, 1910.

[3]) Chiari (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 60, 256, 1909) fand ebenfalls die Autolyse nach Ätherbehandlung stark vermehrt.

bloße Gegenwart des Hemmungskörpers, sondern vielmehr die Verbindung desselben mit der Diastase (oder gewissen anderen Leberbestandteilen) von maßgebender Bedeutung ist. Der Hemmungskörper kann anwesend sein, ohne deswegen notwendig die Diastasewirkung zu verhindern bzw. mit der Diastase in Verbindung zu treten. Allerdings ist hierbei die Einschränkung notwendig, daß möglicherweise die betreffenden Lipoide beim Eintrocknen des Extraktes verändert worden sind. Die Aufklärung dieser Verhältnisse fordert eine Spezialuntersuchung, die noch fehlt. Wahrscheinlich ist diese Möglichkeit jedoch nicht.

Die angeführten Tatsachen verdienen aus mehreren Gründen Aufmerksamkeit. Erstens geht daraus hervor, welche Schwierigkeiten der biologischen Untersuchung der Lipoide entgegenstehen. Wenn nicht allein die Gegenwart, sondern eine spezielle Reaktion der Lipoide mit den betreffenden „Antikörpern" das Wesentliche ist, was nicht notwendig einzutreten braucht, so muß unsere jetzige Versuchsanordnung als verfehlt angesehen werden. Jedenfalls sind die negativen Ergebnisse keineswegs überzeugend. Zweitens ist ersichtlich, daß die jetzt recht beliebte Versuchsanordnung zur Darstellung von „Organplasma": Eintrocknen, Entfernung der Lipoide und Auflösen des Organpulvers in Wasser sehr unzweckmäßig sein muß, wenn man die komplizierteren Verhältnisse des Organs untersuchen will.

Die wichtigste Folgerung, die aus den Versuchen hervorgeht, bleibt jedoch, daß die Froschleber über reichliche Diastasemengen verfügt, viel mehr als zu der physiologischen Zuckerbildung genügt, und daß weiter diese Diastase größtenteils latent ist. Die Diastase ist vorrätig und die Leber vermag durch Veränderung der Bindung der intracellulären Lipoide diese Diastase entweder frei zu machen oder umgekehrt zu inaktivieren. Hierbei kommt außer den Lipoiden das Kochsalz, wie bemerkt, in Betracht.

Der Verfasser glaubt hiermit den Mechanismus der Zuckerbildung in der Leber von R. esculenta exakt erklärt zu haben. Der Mechanismus betrifft die physiologische Zuckerbildung. Es ist aber klar, daß die pathologisch vermehrte Zuckerbildung ebenfalls dadurch hypothetisch erklärt werden kann. Inwie-

Tabelle XIII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	Brei H_2O	0,361	1,00	2,7
	Brei 0,7 %ige NaCl-Lsg.	0,282	1,20	4,3
	Alkohol 0,7 %ige NaCl-Lsg.	0,338	1,25	3,7
2	Brei H_2O	0,366	1,85	5,0
	Alkohol H_2O	0,436	2,00	4,5
	Alkohol 0,3 %ige NaCl-Lsg.	0,531	5,00	9,4
3	Brei 0,2 %ige NaCl-Lsg.	0,492	2,25	4,6
	Alkohol 0,2 %ige NaCl-Lsg.	0,456	1,95	4,3
4	Brei H_2O	0,552	3,50	6,3
	Brei 0,3 %ige NaCl-Lsg.	0,696	4,25	6,1
5	100 ccm Ringer-Lösung	0,574	4,3	7,5
	Brei H_2O	0,486	4,2	8,6
	Brei 0,9 %ige NaCl-Lsg.	0,524	3,3	6,3
6	100 ccm Ringer-Lösung	0,446	3,0	6,7
	Alkohol 0,7 %ige NaCl-Lsg.	0,550	1,6	3,0
	Alkohol H_2O	0,490	1,6	3,1
7	100 ccm Ringer-Lösung	0,680	4,0	6,0
	Brei H_2O	0,585	2,75	4,7
	Alkohol H_2O	0,642	3,50	5,4
8	100 ccm Ringer-Lösung	0,386	2,3	6,0
	Brei H_2O	0,402	1,5	2,5
	Alkohol 0,3 %ige NaCl-Lsg.	0,500	6,25	12,5
9	100 ccm Ringer-Lösung	0,456	2,5	5,5
	Brei 0,7 %ige NaCl-Lsg.	0,370	1,5	4,1
	Alkohol 0,7 %ige NaCl-Lsg.	0,701	6,25	8,9
10	100 ccm Ringer-Lösung	0,315	2,1	8,9
	Alkohol H_2O	0,320	2,75	8,6
	Alkohol 0,7 %ige NaCl-Lsg.	0,315	2,80	8,9
11	100 ccm Ringer-Lösung	0,720	3,45	4,8
	Brei H_2O	0,772	3,50	4,5
	Alkohol H_2O	0,792	6,50	8,2
12	100 ccm Ringer-Lösung	1,000	6,60	6,6
	Alkohol H_2O	0,751	5,50	7,3
	Alkohol 0,7 %ige NaCl-Lsg.	0,960	3,50	3,6
13	Brei H_2O	0,616	3,00	4,9
	Brei 0,2 %ige NaCl-Lsg.	0,557	2,75	5,0
	Brei 0,3 %ige NaCl-Lsg.	0,941	7,00	7,4
14	Brei 0,2 %ige NaCl-Lsg.	0,393	1,50	3,8
	Alkohol H_2O	0,333	1,50	4,5
	Alkohol 0,2 %ige NaCl-Lsg.	0,387	1,60	4,1

Sämtliche Lebern wurden durchspült: Nr. 1 bis 12 mit Ringer-Lösung, Nr. 13 bis 14 mit Rohrzuckerlösung.

weit die Erklärung hierfür tatsächlich zutrifft, darüber müssen die Experimentalversuche, die in der folgenden Abhandlung besprochen werden sollen, entscheiden.

Die obigen Versuche sind, wie bemerkt, ausschließlich mit Lebern von Esculenta ausgeführt. Bei Fusca liegen die Verhältnisse etwas anders. Es wird folglich notwendig sein, diese Verhältnisse näher zu untersuchen.

Oben ist erwiesen, daß die Zuckerbildung der Ringer-Leber von R. esculenta und R. fusca sowohl bei bluthaltigen wie blutfreien Lebern übereinstimmen. Weiter wurde erwiesen, daß der bluthaltige Leberbrei von R. fusca viel weniger Zucker bildet als derselbe von R. esculenta, was damit zusammenhängt, daß das Fuscablut weniger reich an Diastase ist. Die Zuckerbildung bei Leberbrei von R. fusca war auch etwas größer bei Gegenwart von Blut als ohne. Es fragt sich dann, welche Wirkung die Alkoholbehandlung und der Zusatz von Kochsalz bei R. fusca ausübt. (Tab. XIII).

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, daß die Zuckerbildung vor und nach der Alkoholbehandlung unverändert bleibt. Der Alkohol entfernt also keine Hemmungskörper, aber auch keinen Aktivator. In drei Versuchen (Nr. 2, 8 und 9) findet man jedoch eine unzweifelhafte Steigerung nach der Alkoholbehandlung bei Zusatz von NaCl, in Versuch Nr. 11 sogar ohne Zusatz von Kochsalz, was jedoch nicht sehr viel bedeutet, da die Leber stark salzhaltig war (Durchspülung mit Ringer-Lösung). Aus sämtlichen Versuchen geht aber übereinstimmend die Indifferenz des Zusatzes von Kochsalz, auch in den Rohrzuckerversuchen, hervor. Dies braucht jedoch keineswegs die Indifferenz von Kochsalz selbst zu bedeuten. Es wäre sehr merkwürdig, wenn das Kochsalz kein Aktivator der Fusca-Diastase sein sollte, da es sowohl für die Ptyalin- wie Esculenta-Diastase ganz unentbehrlich ist. Vielmehr muß man annehmen, daß das Salz mit der Fusca-Diastase in so fester Verbindung vorkommt, daß es nicht durch Alkohol davon entfernt werden kann, wie es z. B. mit Ptyalin der Fall ist. Bei Esculenta dürfte das Kochsalz nur zum Teil festgebunden vorkommen. Die Richtigkeit dieser Auffassung ist unschwer zu beweisen: Nach der Behandlung der Esculenta-Leber als Brei mit überschüssigem Kochsalz tritt bei der folgenden

Alkoholbehandlung *keine* Inaktivierung ein, wie der Versuch zeigt.

Versuch 1.

Zwei Lappen von Esculenta: a) 0,871 g und b) 0,803 g wurden mehrere Stunden mit Alkohol digeriert. Nach Abzentrifugierung des Alkohols wurde Probe a) mit 5 ccm 0,7 %iger NaCl-Lösung und b) mit 5 ccm Wasser versetzt. Nach 5 Minuten wurden zu beiden Proben 25 ccm Alkohol zugesetzt. Dann wurde zentrifugiert und noch 2 mal mit Alkohol extrahiert. Das letzte Mal gab die alkoholische Lösung nur äußerst geringe Opalescenz mit Silbernitrat. Beiden Proben wurden schließlich 20 ccm H_2O gesetzt. Nach 14 Stunden gefunden: a) 14,4 mg = 16,5 ‰ Zucker; b) 5 mg = 6,2 ‰.

Die Unterschiede zwischen R. fusca und R. esculenta sind deswegen so zu erklären: *Alkoholbehandlung bedingt bei Fusca nur ausnahmsweise eine Steigerung der Diastasewirkung, weil die Fusca-Leber keinen großen Vorrat von latenter Diastase besitzt. Ein Zusatz von Kochsalz ist gleichgültig, weil die darin befindliche Diastase genügend davon in fester Bindung besitzt.* Dementsprechend dürfte die Fusca-Leber die Fähigkeit einer vermehrten Zuckerbildung *entbehren.* Wie in der folgenden Abhandlung bewiesen werden soll, trifft diese Voraussetzung nicht zu. Im Gegenteil findet man bei der Fusca-Leber sogar eine relativ *ausgiebigere* Zuckerbildung als bei der Esculenta-Leber. Diese pathologische Zuckerbildung muß dementsprechend von einem anderen Mechanismus abhängig sein, welcher jedoch kaum bei der physiologischen Zuckerbildung in den Vordergrund tritt. Infolgedessen soll hier die Frage nicht geprüft werden.

Die *physiologische* Zuckerbildung der Fusca-Leber ist nämlich durch die angeführten Versuche exakt erklärt worden. Es ist nämlich erwiesen: 1. Die Leber bildet in Ringer-Lösung und als Brei dieselbe Zuckermenge und als Brei sicher dank der Diastase. 2. Nach momentaner Tötung der Fusca-Leber durch Alkohol liefert der Leberrückstand mit Wasser versetzt etwa dieselbe Zuckermenge wie die Ringer-Leber und der Leberbrei. *Die überlebende Leber von Fusca wie von Esculenta enthält folglich freie Diastase, die für die vitale physiologische Zuckerbildung verantwortlich ist.*

Bekanntlich hat man die Vermutung ausgesprochen, daß das *Glykogen* in den lebendigen Leberzellen in einer solchen

Bindung vorkommen sollte, daß es nicht von der Diastase angreifbar sei. Diese Auffassung läßt sich nicht mit den obigen Befunden vereinigen, daß die Ringer-Leber und der Leberbrei dieselbe Zuckermenge bilden. Tatsächlich ist das Leberglykogen des Leberbreies (ohne Alkoholbehandlung!) von der Blutdiastase — und ich kann zufügen, von Ptyalin — sehr leicht angreifbar. Man hat also keinen Grund anzunehmen, daß das gerade Entgegengesetzte in der lebendigen Leber stattfinden soll.

Die Zuckerbildung der Froschleber.

II. Mitteilung.[1])

Von

Ivar Bang.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 10. Januar 1913.)

1. Einleitung.

Die Schlußfolgerungen, die man aus den in der ersten Mitteilung angegebenen Versuchen ziehen kann, sind folgende: Die osmotischen Versuche zeigen, daß die Froschlebern eine längere Zeit in Ringer-Lösung überleben. Die Zuckerbestimmungen vor und nach dem Aufenthalt in der Ringer-Lösung beweisen, daß die Ringer-Leber Zucker bildet. Da bluthaltige und blutfreie Lebern sich übereinstimmend verhalten, ist die Gegenwart von Blut gleichgültig, was aus dem Grunde beachtenswert ist, weil das Blut reichlich Diastase enthält. Diese Blutdiastase hat also nichts mit der Zuckerbildung der Leber zu tun. Da weiter die Zuckerbildung des Leberbreies mit derjenigen der Ringer-Leber recht gut übereinstimmt, und da ferner die durch Alkohol abgetötete Leber ebenfalls eine Diastase enthält, ist die Folgerung berechtigt, daß die vitale Zuckerbildung enzymatischer Natur sein muß. Ist hiermit der Mechanismus der vitalen Zuckerbildung prinzipiell erklärt worden, so bleibt noch übrig, die Regulation der Zuckerbildung zu erklären. Bekanntlich ist diese Regulation sehr fein eingestellt, was auch aus dem konstanten Blutzuckergehalt ersichtlich ist.

Für R. esculenta ist die Möglichkeit einer solchen Re-

[1]) Zugleich dritte Mitteilung über Diastasen.

gulation aus den Versuchen mit Alkohol- und Kochsalzbehandlung verständlich gemacht: die Leber verfügt über reichliche Diastasemengen, die durch einfache Eingriffe von seiten der Leber aktiviert oder inaktiviert werden können. Für R. fusca, die keinen solchen überschüssigen Vorrat von Diastase besitzt, bleibt die notwendige Variabilität der Enzymwirkung vorläufig ein Rätsel. Aber auch bei R. esculenta ist nur die Möglichkeit nachgewiesen. Inwieweit diese Möglichkeit tatsächlich zutrifft und allein zutrifft, ist jedenfalls nicht exakt bewiesen.

Wenn man diesen dynamischen Vorgängen näherzutreten wünscht, ist das Studium der physiologischen Variationen dem Experiment nicht gut zugänglich: die Ausschläge sind klein und dürften kaum auf die isolierte Leber reproduzierbar sein, da hier doch der Einfluß des Nervensystems und der inneren Sekretion fehlt. Aussichtsvoller dürfte der Versuch sein, die pathologisch vermehrte Zuckerproduktion der überlebenden Froschleber zu verfolgen. Hier sind die Ausschläge wahrscheinlich groß, und die Möglichkeit, einen solchen Diabetes hervorzurufen, scheint nicht ausgeschlossen. Aus zahlreichen Publikationen der letzten Zeit ist bekannt, daß die Mehrzahl der experimentellen Diabetesformen über die Nebenniere geht und von einer Adrenalinsekretion abhängig ist. Das Adrenalin wirkt vom Blute aus auf die Zuckerproduktion der Leber erregend. Da nun weiter die Nebennierenexstirpation ein Sinken des Blutzuckergehaltes mitführt, scheint die Folgerung sehr wahrscheinlich, daß das Adrenalin auch die physiologische Zuckerproduktion reguliert. Da also das Adrenalin direkt auf die Leber (entweder die Leberzellen selbst oder vielleicht noch mehr die nervösen Endapparate) wirkt, dürfte man erwarten, daß die isolierte Ringer-Leber auch für Adrenalin zugänglich wäre, d. h. bei der Vergiftung mit einem Adrenalindiabetes antwortet. Für den Fall, daß dies zutrifft, darf man mutatis mutandis die Ergebnisse auf die physiologische Zuckerbildung bzw. ihre Regulation überführen. Die Aufgabe wird also darin bestehen, zu untersuchen, inwieweit Adrenalin an der isolierten Leber in Ringer-Lösung einen Adrenalindiabetes hervorruft, und zweitens für den Fall, daß dies zutrifft, den Mechanismus der Adrenalinwirkung zu erklären.

2. Die Zuckerbildung der Froschleber nach Adrenalinvergiftung.

Die Adrenalinversuche wurden in der Weise angestellt, daß eine abgemessene Quantität einer 1 ‰igen Adrenalinlösung (gewöhnlich von Parke, Davis & Co. bezogen) der Ringer-Lösung zugesetzt wurde. Die Adrenalinlösung war mit Chloreton (Acetonchloroform) als Antisepticum versetzt, das beim Stehen Salzsäure abspaltet. Solche sauren Lösungen sind, wie später gezeigt werden soll, unzweckmäßig. Da diese Fehlerquelle indessen erst später erkannt wurde, ist es möglich, daß ein Teil der Versuche damit behaftet ist. Beim Stehen wird weiter das Adrenalin oxydiert, was ebenfalls eine geringere Wirkung bedingt. Schließlich wurde das Adrenalin nur als 1 ‰ ige Lösung in sterilen Ampullen à 0,5 ccm verwendet, wodurch diese beiden Fehlerquellen ausgeschlossen sind. Das Schütteln der Ringer-Lösung während des Versuchs befördert die Adrenalinwirkung. Dies wurde auch anfangs unterlassen.[1])

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Ergebnisse.

Ein Blick auf die Tabelle macht es einleuchtend, daß ein Zusatz von 1:100000 Adrenalin eine starke Vergrößerung der Zuckerproduktion der überlebenden Leber von R. esculenta und R. fusca bedingt. Beim Vergleich mit der physiologischen Variation der einzelnen Leberlappen[2]), die etwa 1 ‰ oder 16 bis 17 % beträgt, findet man hier 4,9 ‰ oder 88 % als Durchschnitt, eine weit oberhalb der Fehlergrenzen liegende Differenz, die konstant zugunsten der Adrenalinleber ausfällt. Es kann kein Zweifel darüber sein, daß Adrenalin 1 : 100000 eine bedeutende Zunahme der Zuckerbildung bedingt.

Es fragt sich: Bildet das Adrenalin einen Reiz der Zuckerproduktion, oder wird die Leber vielleicht durch das Gift getötet? Kommt die Blutdiastase durch die toten Zellen mit dem Glykogen in Berührung? Diese Fragen sind exakt beantwortet worden, wie folgt:

1. Das Adrenalin ist unzweifelhaft ein starkes Zellgift.

[1]) Betreffs der Versuchsmethodik wird sonst an die vorhergehende Abhandlung verwiesen.

[2]) Siehe die vorhergehende Abhandlung, Tab. II und III.

Tabelle I.
Adrenalin 1 : 100 000.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
	a) Esculenta.					
1	Ringer-Lösung + A[1])	0,639	5,8	9,1	+ 1,3	+ 17
	"	0,911	7,1	7,8		
	"	0,584	4,5	7,1		
2	Ringer-Lösung + A	0,932	11,3	12,1	+ 7,5	+ 163
	"	1,323	6,2	4,6		
3	Ringer-Lösung + A	0,658	7,2	9,3	+ 4,9	+ 107
	"	0,769	3,4	4,4		
4	Ringer-Lösung + A	1,470	13,75	9,3	+ 5,3	+ 133
	"	1,605	6,50	4,0		
5	Ringer-Lösung + A	0,886	9,5	10,6	+ 2,0	+ 23
	"	0,871	7,5	8,6		
	"	0,661	5,4	8,0		
6	Ringer-Lösung + A	0,961	14,3	16,9	+ 8,7	+ 106
	"	1,006	8,0	8,2		
	"	0,643	3,6	5,6		
7	Ringer-Lösung + A	2,052	15,2	7,4	+ 3,5	+ 90
	"	2,239	8,75	3,9		
	"	1,575	6,15	3,9		
	b) Fusca.					
8	Ringer-Lösung + A	0,651	10,0	15,0	+ 5,0	+ 50
	"	0,476	4,9	10,0		
	"	0,484	4,9	10,0		
9	Ringer-Lösung + A	0,663	7,8	11,8	+ 6,5	+ 100
	" + A	0,746	10,8	14,5		
	"	0,756	5,0	6,6		

[1]) A = Adrenalin.

Die Frage ist, inwieweit eine Konzentration 1 : 100 000 eine Schädigung der Leberzellen bedingt, und im positiven Falle: welche ist dann die zulässige Konzentration? Zuerst soll über Versuche mit Vergiftung von Froschmuskeln berichtet werden. Die Versuche sind von Prof. Overton für mich ausgeführt worden. Ich spreche auch hier meinem Freunde Prof. Overton meinen herzlichsten Dank dafür aus.

Versuch 1.

Versuch mit M. sartorius von R. esculenta in 1 : 100 000 Adrenalin in 80 ccm Ringer-Lösung.

25. IX. 1912, 12h 43′ pm. Sartorius A unmittelbar nach der Prä-

paration Gewicht 278 mg. 12h 58′ pm. Sartorius B 264 mg. Beide Muskeln in Ringer-Lösung suspendiert.

5h 50′ pm. A 1 : 100 000 Adrenalin in 80 ccm Ringer-Lösung im Dunkeln aufbewahrt, B in reiner Ringer-Lösung.

26. IX., 12h 22′ pm. A 285 mg. Bei 25 cm Rollenabstand merkliche, bei 20 cm kräftige Contractionen. Keine Contractionen bei 26 bis 27 cm Rollenabstand. Muskel deutlich etwas gelitten. 12h 55′ pm. B 262 mg. Bei 30 bis 31 cm Rollenabstand eben merkliche, bei 26 bis 27 cm kräftige Contractionen. Erregbarkeit und Contractilität von A also deutlich geringer als bei B und das Aussehen schlechter.

6h 35′ pm. A 297 mg. Reizschwelle 24 cm statt 31 cm bei B. A etwas, obwohl wenig, verkürzt.

27. IX., 2h 10′ pm. A 328 mg, kontrahiert sich bei 19 cm. Oberfläche kreideartig. Schwellenwert bei B, der 270 mg wiegt, 28 cm Rollenabstand. Contraction gut. 6h 30′ pm. A 335 mg. Temp. 12°. 6h 32′ pm. B 290 mg. Schwellenwert von A 16 bis 17 cm, bei 12 cm Contractionen noch ziemlich gut. Schwellenwert bei B 23 bis 24 cm Rollenabstand. Bei 20 cm Contractionen gut.

28. IX., 5h 25′ pm. A 382 mg, B 433 mg. Beide völlig unerregbar, selbst bei ganz genäherten Rollen.

Versuch 2.

Versuch mit Sartorius von R. esculenta in 1 : 50 000 Adrenalin in 80 ccm Ringer-Lösung.

8. IX., 12h 5′ pm. Sartorius A einer gesunden, mittelgroßen R. esc. nach kurzer Suspension in Ringer-Lösung 308 mg Gewicht. 2h 30′ pm. 316 mg.

2h 35′ pm. in 80 ccm 1 : 50 000 Adrenalin übergeführt. Temp. 14°. Es traten weder unmittelbar nach der Überführung des Sartorius noch später irgendwelche „spontanen“ Zuckungen des Muskels ein.

10h 10′ pm. 293 mg. Muskel etwas verkürzt, reagiert erst bei 20 bis 21 cm Rollenabstand statt bei 30 bis 31 cm. Contraction bei 20 cm noch ziemlich schwach, aber gleichmäßig über die ganze Länge des Muskels.

9. IX., 10h am. 281 mg, reagiert erst bei 18 bis 20 cm Rollenabstand; bei 16 cm Contraction, noch ziemlich gleichmäßig über die ganze Länge des Muskels.

Versuch 3.

Sartorius und Gastrocnemius + Nerv von R. esc. in 1 : 200 000 Adrenalin in Ringer-Lösung.

7. IX., 11h 30′ am. Nach 18stündigem Verweilen in Ringer-Lösung Sartorius 216 mg. 11h 35′ am. in 1 : 200 000 Adrenalin übergeführt.

12h 35′ pm. 218 mg. Contraction bis 25 cm Rollenabstand noch ziemlich gleichmäßig. 3h pm. 218 mg, 5h 20′ pm. 218 mg, 5h 48′ pm. 218 mg; bei 32 cm Rollenabstand erregbar. Erregbarkeit und Contractionsstärke etwas zugenommen. Gastrocnemius + Nerv, der eben-

falls um 11h 35′ am. in die Adrenalinlösung übergeführt wurde, war um 5h 50′ pm. vom Nerven aus ziemlich gut erregbar, doch dürfte die Erregbarkeit und Contractionsstärke etwas herabgesetzt sein, d. h. die Nervenendapparate etwas gelähmt (doch unsicher).

8. IX., 11h 20′ am. Sartorius 217 mg, bei 32 bis 34 cm erregbar, bei 30 cm Contraction regelmäßig und stark. Gastrocnemius + Nerv vom ganzen Nervenstamm aus bei ca. 40 cm Rollenabstand erregbar; Temp. 14°.

10h 30′ pm. Sartorius 237 mg, gute Contraction bei 23 cm Rollenabstand. Gastrocnemius vom Nerven noch ziemlich gut erregbar bei 36 cm Rollenabstand.

9. IX., 11h 15′ am. Sartorius 264 mg, etwas erregbar bei 24 cm Rollenabstand. Gastrocnemius vom Nerven aus nicht mehr erregbar (verfault).

Aus den Versuchen geht hervor, daß 1 : 50000 Adrenalin schon nach 6 Stunden eine deutliche Vergiftung des Muskels mit herabgesetzter Vitalität bewirkt hat, daß weiter 1 : 200000 Adrenalin keine Veränderung des Muskels herbeiführt und also ungiftig ist. Bei der Konzentration 1 : 100000 Adrenalin tritt die Vergiftung, obwohl nur langsam, ein. Nach 24 Stunden ist der Muskel nur unbedeutend verändert.

2. Da nun die Leber das große entgiftende Organ ist, darf man voraussetzen, daß das Adrenalin jedenfalls nicht giftiger für die Leber als für den Muskel ist. Nach Langley ist die Leber eben das entgiftende Organ für Adrenalin. Diese Vermutung wurde außerdem noch weiter durch osmotische Versuche an adrenalinvergifteten Lebern sichergestellt.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Adrenalin	Ursprungsgewicht des Lappens g	Nach 8 bis 9 Std. in Ringer-Lösung g	Differenz g
1	1 : 100 000	0,663	0,628	− 0,035
	1 : 100 000	0,746	0,835	+ 0,089
	Kontrolle	0,756	0,753	− 0,003
2	1 : 100 000	0,639	0,676	+ 0,037
	Kontrolle	0,911	0,878	− 0,033
	„	0,584	0,612	+ 0,028
3	1 : 100 000	0,764	0,838	+ 0,074
	Kontrolle	0,628	0,681	+ 0,053
4	1 : 200 000	0,696	0,585	− 0,111
	Kontrolle	0,706	0,638	− 0,068

Tabelle II (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Adrenalin	Ursprungsgewicht des Lappens g	Nach 8 bis 9 Std. in Ringer-Lösung g	Differenz g
5	1 : 100000	0,691	0,545	− 0,156
	Kontrolle	0,796	0,750	− 0,046
6	1 : 100000	1,132	1,131	± 0
	Kontrolle	0,751	0,841	+ 0,090
7	1 : 100000	1,562	1,404	− 0,158
	Kontrolle	1,178	1,278	+ 0,100
	„	1,123	1,416	+ 0,187
8	1 : 100000	0,886	0,640	− 0,246
	Kontrolle	0,871	0,683	− 0,204
	„	0,661	0,610	− 0,051
9	1 : 100000	1,006	1,096	+ 0,090
	Kontrolle	1,174	1,396	+ 0,220
	„	0,796	0,996	+ 0,200
10	1 : 100000	2,052	2,138	+ 0,086
	Kontrolle	2,339	2,838	+ 0,599
	„	1,575	1,778	+ 0,203

Nr. 1 bis 4 Lebern von R. fusca, Nr. 5 bis 10 Lebern von R. esculenta.

Außerdem wurde in zwei Versuchen das Gewicht während längerer Zeit verfolgt. In dem einen Versuch war das Anfangsgewicht bei der adrenalinvergifteten (1 : 100000) Leber 1,121 g, nach 4 Std. 1,191 g, nach 18 Std. 1,270 g, nach 31 Std. 1,290 g, nach 50 Std. 1,270 g, nach 74 Std. 1,250 g. Die Kontrolle wog anfangs 0,896 g, nach 4 Std. 0,801 g, nach 18 Std. 0,782 g und ebenso nach 74 Std. Temp. 4 bis 5°.

In Versuch 2 waren die Anfangsgewichte (A) 0,479 g (1 : 100000 Adrenalin) und 0,480 g (B). Nach 16 Std. A = 412 mg, B = 504 mg, nach 21 Std. 0,401 g (A) und 0,486 g (B). Nach 49 Std. A = 0,390 g, B = 0,429 g. Temp. 4 bis 5°.

Die Gewichtskurven der adrenalinvergifteten und nicht vergifteten Leberlappen stimmen also recht gut überein, und die Befunde sprechen eher gegen eine direkte Schädigung der Leber bei der Konzentration 1 : 100000 Adrenalin.

3. Diese Tatsache kann weiter sichergestellt werden. Teils kann man zeigen, daß die vom Blut befreite Leber sich genau so wie die bluthaltige verhält, was unmöglich wäre, wenn die Leberzellen untergegangen wären. Teils kann man durch Verwendung geringerer Adrenalinkonzentration eine ähnliche Zuckerproduktion hervorrufen. Die folgenden Tabellen sollen hierüber unterrichten.

Tabelle III.

Esculenta.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
1	100 ccm Ringer-Lösung + A	1,006	13,2	13,0	+ 4,2	+ 49
	100 „ „	1,174	11,3	9,6		
	100 „ „	0,796	6,3	8,0		
2	100 „ isoton. NaCl-Lsg. + A	1,562	18,2	11,7	+ 2,7	+ 30
	100 „ „ „	1,178	11,47	9,7		
	100 „ Ringer-Lösung	1,123	7,87	7,0		
3	100 „ isoton. NaCl-Lsg. + A	0,691	12,75	18,5	+ 9,3	+ 100
	100 „ „ „	0,796	8,67	10,9		
	100 „ Ringer-Lösung	0,596	4,50	7,6		
4	100 „ isoton. NaCl-Lsg. + A	2,831	25,8	9,1	+ 1,6	+ 23
	100 „ „ „	3,036	22,9	7,5		
	100 „ Ringer-Lösung	1,412	10,43	7,4		
5	100 „ Ringer-Lösung + A	0,875	13,2	15,1	+ 3,8	+ 33,6
	100 „ „	0,727	8,2	11,3		

Durchströmungsflüssigkeit überall Ringer-Lösung. A = 1 : 100000 Adrenalin.

Auch hier liegen die gefundenen Werte weit über den physiologischen Differenzen und zeigen unzweifelhaft eine erregende Wirkung des Adrenalins auf die Zuckerproduktion. Da die Werte, wie ersichtlich, gut mit denselben bei bluthaltigen Lebern übereinstimmen (4,3 ‰ bzw. 48 % gegen 4,9 ‰ und 88 %), kann man die Möglichkeit ausschließen, daß die Leberzellen durch das Adrenalin geschädigt worden sind; sonst hätte die Blutdiastase sich geltend machen müssen. Auch hier sind die Werte etwas höher, als bei den Versuchen mit Leberbrei, doch ist der Unterschied zu gering, um daraus etwas zu folgern.

4. Die umstehenden Versuche zeigen die Wirkung geringerer Adrenalinkonzentrationen.

Selbst wenn man also von den Versuchen mit 1 : 100000 Adrenalin absieht, zeigen die Versuche mit 1 : 200000 Adrenalin — eine für den Muskel ganz unschädliche Quantität — eine unzweifelhafte Einwirkung auf die Zuckerproduktion der Leber. Die physiologischen Differenzen waren 1 ‰ bzw. 16 bis 17 %. Hier wurden gefunden 4,5 ‰ und 58 %. In sämtlichen Versuchen betrug die relativ physiologische Differenz weniger als

Tabelle IV.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
	I. Adrenalinkonzentration 1 : 200 000.					
	a) Esculenta.					
1	100 ccm Ringer-Lösung + A	1,257	17,50	14,0	+ 2,3	+ 20
	100 „ „	0,918	10,75	11,7		
2	100 „ „ + A	1,301	15,21	11,6	+ 4,6	+ 66
	100 „ „	1,671	11,80	7,0		
3	100 „ „ + A	1,389	10,20	7,3	+ 2,4	+ 50
	100 „ „	1,319	6,45	4,9		
4	100 „ „ + A	1,715	17,35	10,0	+ 1,9	+ 23,5
	100 „ „	1,340	10,32	8,1		
5	100 „ „ + A	1,341	20,40	15,2	+ 2,8	+ 23
	100 „ „	1,513	18,88	12,4		
6	100 „ „ + A	2,233	45,54	19,05	+12,45	+ 190
	100 „ „	2,255	15,00	6,60		
7	100 „ „ + A	0,875	13,20	15,1	+ 3,7	+ 33
	100 „ „	0,727	8,15	11,3		
	100 „ „	0,590	6,70	11,4		
	b) Fusca.					
8	100 „ „ + A	1,300	10,8	8,6	+ 4,1	+ 91
	100 „ „	0,881	4,0	4,5		
	100 „ „	0,771	3,4	4,4		
9	100 „ „ + A	0,696	9,5	13,8	+ 5,0	+ 60
	100 „ „	0,706	6,0	8,5		
10	100 „ „ + A	0,710	8,75	12,3	+ 7,0	+ 132
	100 „ „	0,654	3,40	5,3		
11	100 „ „ + A	0,284	4,15	14,6	+ 3,7	+ 34
	100 „ „	0,258	2,80	10,9		
	II. Adrenalinkonzentration 1 : 400 000.					
	Fusca.					
12	100 ccm Ringer-Lösung + A	0,682	7,05	11,8	+ 3,1	+ 41
	100 „ „	0,560	3,31	6,0		
	100 „ „	0,381	3,40	8,9		
13	100 „ „ + A	0,422	3,00	7,1	+ 1,9	+ 37
	100 „ „	0,438	2,35	5,4		
	100 „ „	0,496	2,50	5,0		
14	100 „ „ + A	0,482	4,20	8,7	+ 3,6	+ 70
	100 „ „	0,458	2,50	5,0		
	100 „ „	0,572	2,90	5,1		

Die Lebern waren bluthaltig.

50%. Hier ist der Durchschnittswert über 50%. Weiter findet man **konstant** bei den adrenalinvergifteten Lappen die größte Zuckerbildung, die in sämtlichen Fällen über dem physio-

logischen Durchschnittswerte liegt. Diese Ziffern sind um so mehr beweisend, da in vielen Versuchen zwei Kontrollen vorliegen, die ihrerseits miteinander übereinstimmen. Schließlich zeigen die Versuche mit 1 : 400 000 Adrenalin noch eine typische Adrenalinwirkung, deren Intensität nicht wesentlich hinter den bei 1 : 100 000 resp. 1 : 200 000 Adrenalin gefundenen Werten liegt (2,9 ‰ bzw. 49 %).

5. Die Frösche selbst vertragen eine Vergiftung mit 1 : 100 000 Adrenalin und selbstverständlich auch eine geringere Quantität. Da die Frösche eher weniger als 100 g wiegen, entspricht die Einführung von 1 mg Adrenalin etwa der nämlichen Dosis. Solche Versuche können auch über die zuckermobilisierende Wirkung solcher Adrenalinmengen beim Tier unterrichten, was zum Vergleich mit der entsprechenden Zuckerbildung der überlebenden Leber von Interesse sein wird.

Es wurden teils der Harn, teils das Blut auf Zucker untersucht. Für die Harnzuckerbestimmung wurde zuerst die Harnblase ausgepreßt, dann die Kloake mit einem Seidenfaden über ein Korkstäbchen gebunden. Eine passende Zeit nach der Adrenalinvergiftung wurde der Harn nach Entfernung des Korkstäbchens auf Zucker untersucht. Der Blutzucker wurde nach der Mikromethode bestimmt. Blut aus Sinus venosus (ausnahmsweise aus den durchgeschnittenen Gefäßen nach der Dekapitation).

Versuch 1.

2. IX. 1912. Frisch eingefangene R. fusca. 11^{h} am. 0,5 mg Adrenalin. hydrochlor. in den Lymphesack eingespritzt. 12^{h} 45′ pm. Dekapitation. Blutzucker: 1. 109 mg Blut — 0,14 mg Zucker = 0,12 %. 2. 158 mg Blut — 0,185 mg Zucker = 0,18 %. In der Harnblase 2,4 ccm Harn mit 2,75 mg Zucker = 0,11 % Harnzucker.

Versuch 2.

5. IX. 1912. Frisch eingefangene R. fusca. 11^{h} 20′ am. 0,5 mg Adrenalin eingespritzt. 1^{h} 20′ m. Dekapitation. Blutzucker: 1. 122 mg Blut — 0,10 mg Zucker = 0,08 %. 2. 128 mg Blut — 0,11 mg Zucker = 0,085 %. In der Harnblase 1,5 ccm Harn. 1 ccm = 0,75 mg Zucker = 0,05 %.

Versuch 3.

11. XII. 1911. R. esculenta, einige Tage bei Zimmertemperatur. 1 mg Adrenalin injiziert. Nach 1^{h} 15′ m. Dekapitation. Blutzucker: 150 mg Blut — 0,105 mg Zucker = 0,07 %. Ein Kontrolltier, das ebenso lange bei Zimmertemperatur gelebt hatte, zeigte: 1. 89 mg Blut — 0,04 mg Zucker = 0,05 %. 2. 107 mg Blut — 0,045 mg Zucker = 0,04 %.

Versuch 4.

14. XII. 1911. R. esculenta, einige Tage bei Zimmertemperatur. 1h 10′ 1 mg Adrenalin in den Lymphsack eingespritzt. 2h 35′ pm. Blutzucker: 1. 105 mg Blut — 0,105 mg Zucker = 0,10%. 2. 123 mg Blut — 0,125 mg Zucker = 0,10%. Ein Kontrolltier zeigte: 1. 180 mg Blut — 0,075 mg Zucker = 0,04%. 2. 153 mg Blut — 0,05 mg Zucker = 0,04%.

Versuch 5.

6. XII. 1911. Nach Entfernung des Harns und Unterbindung der Kloake wurde eine R. esculenta um 1h 15′ am. mit 0,25 mg Adrenalin vergiftet. Um 6h pm. wurden 3,1 ccm farbloser, wasserklarer Harn mit einer Reduktion von 0,075% Zucker gesammelt.

Versuch 6.

8. XII. 1911. An einer R. esculenta wurden nach Vergiftung mit 0,5 mg Adrenalin 11h 30′ am. nach 4 Stunden 3,2 ccm Harn ausgepreßt. Reduktion = 0,03%. Der Frosch überlebt.

Versuch 7.

10. XII. 1911. Um 11h am. wurden 2 ccm Harn aus einer frischen R. esculenta ausgepreßt. Reduktion = 0,01%. Gleich nachher wurde 1 mg Adrenalin eingespritzt. Nach 6½ Stunden wurde 1 ccm Harn ausgepreßt. Reduktion = 0,03%. Das Tierchen wurde von dem Adrenalin stark vergiftet und sah recht elend aus. Überlebt.

Aus den Versuchen geht hervor, daß der Blutzuckergehalt nach Vergiftung mit 0,5 bis 1,0 mg Adrenalin um 100 bis 200% in die Höhe steigt, welche Werte mit den bei der überlebenden Leber gefundenen recht gut übereinstimmen. Weiter ist ersichtlich, daß eine Blutzuckerkonzentration von etwa 0,10% beim Frosch einer zur Glucosurie führenden Hyperglykämie entspricht. Schließlich geht hervor, daß eine Adrenalindosis von 1 : 100 000 zwar eine starke, aber keine tödliche Vergiftung herbeiführt. Bei den geringeren Adrenalindosen waren die Frösche weit weniger angegriffen. (Die Zeit der Blutentnahme entspricht der an Kaninchen gefundenen Optimumzeit der Hyperglykämie nach Adrenalinvergiftung.)

6. Schließlich findet bei der Adrenalinvergiftung der Leberlappen keine Milchsäurebildung statt. Auch kommt keine Exosmose der intracellulären Salze, wohl aber, wie oben erwiesen, ein Übergang des Leberzuckers in die umgebende Lösung vor[1]).

[1]) Die Ausscheidung des Zuckers zeigt keine Eigentümlichkeit gegenüber dem physiologischen Verhalten, folglich wird im folgenden nur die Summe des Zuckers angegeben.

Ich glaube deswegen, daß man zu der Folgerung berechtigt ist, daß die Zuckerbildung der überlebenden Froschleber nach Adrenalinvergiftung ein vitaler Prozeß ist, was übrigens, wenn möglich, noch überzeugender aus den Untersuchungen über den Mechanismus der Zuckerbildung nach Adrenalinvergiftung hervorgeht.

3. Der Mechanismus der Zuckerbildung der überlebenden Froschleber bei der Adrenalinvergiftung.

Wie bei der physiologischen Zuckerbildung der Leber hat man bei der pathologischen Überproduktion mit drei Möglichkeiten zu rechnen: der Blutdiastase, einer protoplasmatischen Tätigkeit oder einer Enzymwirkung. Wenn es sich für die physiologische Zuckerbildung herausgestellt hat, daß diese von einer Enzymwirkung abhängig ist, so gewinnt die dritte Möglichkeit für die pathologische Zuckerbildung sehr an Wahrscheinlichkeit. Was wir aber wünschen, ist nicht allein Wahrscheinlichkeit, sondern einen exakten Beweis. Für den Fall, daß auch die pathologische Zuckerbildung einer Enzymwirkung entspricht, fordern wir weiter, den Mechanismus dieser Enzymwirkung kennen zu lernen, inwieweit nämlich eine Neubildung von Enzym oder eine Aktivierung eines solchen schon präformiert existierenden vorliegt, und weiter, wie die Neubildung bzw. die Aktivierung angeregt wird und zustande kommt.

A. Die Blutdiastase.

Schon in der Tabelle III ist erwiesen, daß die vom Blut befreite Leber bei der Adrenalinvergiftung mit Zuckerbildung antwortet. Folglich kommt die Blutdiastase nicht in Betracht. Diese Ergebnisse werden durch die folgenden Untersuchungen noch weiter sichergestellt. A = 1 : 200000 Adrenalin. Durchströmungsflüssigkeit: Ringer-Lösung.

Tabelle V.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
	a) Esculenta.					
1	100 ccm Ringer-Lösung + A	1,899	22,0	11,6	+ 3,6	+ 40
	100 „ „	1,988	16,5	8,3		
2	100 „ „ + A	1,328	17,5	13,2	+ 0,1	+ 1
	100 „ „	1,336	17,4	13,1		

Tabelle V (Fortsetzung).

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
3	100 „ „ + A 100 „ „	1,218 1,177	21,6 18,4	17,7 15,6	+ 2,1	+ 13
4	100 „ „ + A 100 „ „	1,518 1,767	21,84 20,66	14,4 11,7	+ 2,7	+ 23
5	100 „ „ + A 100 „ „	1,271 1,288	13,00 10,50	10,2 8,1	+ 2,1	+ 26
6	100 „ 0,7 % NaCl-Lg. + A 100 „ 0,7 % „	1,280 0,965	13,15 6,90	10,4 7,0	+ 3,4	+ 53
7	100 „ Ringer-Lösung + A 100 „ „	0,875 0,727	13,20 8,20	15,1 11,3	+ 3,8	+ 33,6
	b) Fusca.					
8	100 ccm Ringer-Lösung + A 100 „ „	0,375 0,288	8,00 3,90	21,3 13,5	+ 7,8	+ 60
9	100 „ „ + A 100 „ „	0,660 0,458	4,90 3,20	7,4 7,0	+ 0,4	+ 6
10	100 „ „ + A 100 „ „	0,550 0,712	4,25 6,30	9,5 8,9	+ 0,6	+ 7
11	100 „ „ + A 100 „ „	0,707 0,814	3,40 6,10	5,0 7,4	− 2,7	− 54
12	100 „ „ + A 100 „ „	0,346 0,318	5,12 3,50	14,8 11,0	+ 3,8	+ 35
13	100 „ „ + A 100 „ „	0,397 0,445	3,10 2,30	8,9 5,2	+ 3,7	+ 72
14	100 „ „ + A 100 „ „	0,495 0,525	5,25 3,95	10,6 7,5	+ 3,1	+ 40
15	100 „ „ + A 100 „ „	0,396 0,578	2,90 2,65	7,3 4,6	+ 2,7	+ 60
16	100 „ „ + A 100 „ „	0,445 0,620	5,45 2,95	12,2 4,8	+ 7,4	+ 154
17	100 „ „ + A 100 „ „	0,377 0,355	5,70 3,25	15,1 9,1	+ 6,0	+ 66
18	100 „ „ + A 100 „ „	0,334 0,308	5,00 3,50	15,0 11,4	+ 3,6	+ 32
19	100 „ „ + A 100 „ „	0,639 0,475	4,40 1,65	7,0 3,5	+ 3,5	+ 100
20	100 „ „ + A 100 „ „	0,491 0,601	4,55 2,22	9,3 3,7	+ 5,6	+ 151
21	100 „ „ + A 100 „ „	0,617 0,547	6,20 2,85	10,0 5,5	+ 4,5	+ 81

Die angeführten Versuche bestätigen, daß **die Blutdiastase nichts mit der Adrenalinwirkung zu tun hat.** Man kann also von dieser Möglichkeit hier ebenso wie bei der physiologischen Zuckerbildung der Leber absehen. Die vier Versuche Nr. 2, 9, 10 und 11 sprechen jedoch gegen diese Folgerung, indem hier so gut wie keine Vermehrung, in einem Falle sogar eine geringere Zuckerbildung als in der Kontrolle vorliegt. Diese Versuche kontrastieren scharf gegen die übrigen 17 Versuche, wo eine reichliche Neubildung — bis 150% — gegenüber der Kontrolle vorkommt. Die Jahreszeit spielt hierbei keine Rolle. Man findet im September wie im Dezember bis Februar etwa dieselbe Vermehrung, obwohl die prozentuale Zunahme etwas geringer ist, wenn die Kontrolle relativ viel Zucker bildet, als im August bis September, wo die Zuckerbildung gering ist. Dies trifft übrigens sowohl bei bluthaltigen wie blutfreien Lebern zu.

Die Erklärung ist viel einfacher. In den Versuchen Nr. 9 bis 11 wurde eine Adrenalinstammlösung verwendet, die einige Tage gestanden hatte. Aus dem Chloreton war Salzsäure abgespalten worden, infolgedessen reagierte die Ringer-Lösung sauer. Titrimetrisch bestimmt verbrauchte die Ringer-Lösung von Nr. 11 0,5 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH. Hieraus läßt sich folgern, daß eine schwach saure Reaktion die Adrenalinwirkung verhindert. In den unmittelbar folgenden Versuchen, von Nr. 12 ab, wo diese Fehlerquelle beseitigt wurde, findet man wieder konstant eine beträchtliche Zunahme der Zuckerbildung bei den Adrenalinversuchen. Die Hemmungswirkung der Salzsäure ist prinzipiell wichtig und wurde deswegen näher untersucht. Tabelle VI gibt über die Ergebnisse eine Übersicht. A = 1:200000 Adrenalin. Durchströmungsflüssigkeit: Ringer-Lösung.

Die Versuche (Tab. VI) bestätigen also durchaus, daß eine geringe Salzsäuremenge[1]) die Adrenalinwirkung herabsetzt. Die Frage wird dann sein: Bedingt die Salzsäure diese Hemmung durch direkte, unabhängige Wirkung auf die Leber oder wirkt sie dem Adrenalin selbst entgegen. Die Befunde nach Zusatz von HCl ohne Adrenalin (Tab. VII) geben hierüber Antwort. In den Versuchen Nr. 1 und 2 waren die Lebern mit Ringer-Lösung durchgespült, in den übrigen nicht. In Versuch Nr. 5 wurde Leber von R. esculenta verwendet, in den übrigen von R. fusca.

[1]) Obs. nur 0,25 ccm $^{n}/_{10}$-HCl!

Tabelle VI.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
1	100 ccm Ringer-Lösung + A	0,445	5,45	12,2	+ 7,4	+ 154
	100 „ „ + A + 0,25 ccm $^{n}/_{10}$-HCl	0,420	4,10	9,8	+ 4,0	+ 84
	100 „ Ringer-Lösung	0,620	2,95	4,8		
2	100 „ Ringer-Lösung + A	0,377	5,70	15,1	+ 6,0	+ 66
	100 „ „ + A + 0,25 ccm $^{n}/_{10}$-HCl	0,347	3,80	10,95	+ 1,85	+ 20
	100 „ Ringer-Lösung	0,355	3,25	9,1		
3	100 „ Ringer-Lösung + A	0,334	5,00	15,0	+ 3,6	+ 32
	100 „ „ + A + 0,25 ccm $^{n}/_{10}$-HCl	0,402	5,05	12,55	+ 1,15	+ 10
	100 „ Ringer-Lösung	0,308	3,50	11,40		

Tabelle VII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	100 ccm Ringer-Lösung	0,390	4,85	11,8
	100 „ „ + 0,25 ccm $^{n}/_{10}$-HCl	0,368	3,95	10,8
2	100 „ „	0,486	3,65	7,5
	100 „ „ + 0,25 „ „	0,350	3,00	8,6
	100 „ „	0,490	3,70	7,6
3	100 „ „	0,260	2,00	8,0
	100 „ „ + 0,15 „ „	0,260	2,25	8,6
4	100 „ „	0,495	2,45	5,0
	100 „ „ + 0,15 „ „	0,442	2,00	4,3
5	100 „ „	0,765	7,35	9,6
	100 „ „ + 0,1 „ „	0,496	5,45	11,0

Wie ersichtlich, ist Zusatz von Salzsäure ohne Adrenalin indifferent. Folglich verhindert die Säure wohl die Adrenalinwirkung, nicht aber die physiologische Zuckerbildung. Die Erklärung hierfür soll unten gegeben werden.

[In diesem Zusammenhang mag nebenbei bemerkt werden, daß das oxydierte Adrenalin ebenfalls minderwertig ist. In einem Versuch wurde das Adrenalin vorsichtig mit $^{n}/_{100}$-Jodlösung oxydiert. 1:200000 von diesem Präparat lieferte 8,5 ‰ Zucker, die Kontrolle mit gewöhnlichem Adrenalin 12,3 ‰ und die Kontrolle ohne Adrenalin 5,3 ‰. Die Ergebnisse stimmen

mit den gewöhnlichen Befunden bei Blutdruckuntersuchungen überein. Das Adrenalin in Ringer-Lösung wird recht rasch oxydiert.]

Ein Vergleich zwischen den Versuchen mit bluthaltigen und blutfreien Lebern nach Adrenalinvergiftung zeigt, daß die Zuckerbildung bei den blutfreien Lebern ebenso ausgiebig wie bei der bluthaltigen ist. Dies geht immer deutlicher aus dem direkten Vergleich hervor. (Versuche an Fusca) A = 1:200000 Adrenalin.

Tabelle VIII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	Nicht durchströmt			
	100 ccm Ringer-Lösung + A	0,818	6,4	7,8
	Durchströmt mit Ringer-Lösung			
	100 ccm Ringer-Lösung + A	0,639	4,4	7,0
	100 „ Ringer-Lösung	0,475	1,65	3,5
2	Nicht durchströmt			
	100 ccm Ringer-Lösung + A	0,645	6,60	10,5
	Durchströmt mit Ringer-Lösung			
	100 ccm Ringer-Lösung + A	0,491	4,45	9,3
	100 „ Ringer-Lösung	0,601	2,20	3,7

Aus sämtlichen obigen Versuchen geht also eindeutig hervor, daß die Blutdiastase nichts mit der Zuckerbildung nach Adrenalin zu tun hat. Das Adrenalin wirkt folglich direkt auf die Leber.

B. Protoplasmatische Tätigkeit oder Enzymwirkung.

Aus den Versuchen mit blutfreien Lebern, besonders von Fusca, geht weiter eine bemerkenswerte Tatsache hervor: Es kommt nicht allein eine bedeutende Vermehrung der Zuckerbildung gegenüber der überlebenden Kontrolle, sondern ebenfalls gegenüber der Zuckerbildung des Leberbreies vor (vgl. die Tabellen VI und VII der vorhergehenden Abhandlung). Hieraus läßt sich bestimmt folgern, daß das Adrenalin eine Erregung der überlebenden Leber zur Zuckerbildung bewirkt, vorausgesetzt, daß das Adrenalin bei der toten Leber unwirksam ist. Dies ist auch nicht schwer zu beweisen.

Tabelle IX.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	Brei 20 ccm H_2O	0,552	3,50	6,3
	„ 20 „ „ + A	0,407	2,00	4,9
	„ 20 „ „	0,696	4,25	6,1
2	„ 15 „ „	0,758	19,50	25,7
	„ 15 „ „ + A	0,792	19,65	24,8

Versuch Nr. 1. Leber von Fusca A = 1:200000 Adrenalin.

Versuch Nr. 2. Leber von Esculenta A = 1:100000 Adrenalin. Beide Lebern mit Ringer-Lösung durchströmt. Nr. 2 enthält jedoch noch etwas Blut.

Aus diesen Versuchen läßt sich exakt folgern, daß die Ringer-Lebern lebendig sind, und weiter, daß das Adrenalin keineswegs die Leberzellen töten. Im Gegenteil bedingt das Adrenalin eine Erregung der Zellen, die wohl mit der Contraction des Muskels verglichen werden kann.

Nach Erledigung der Blutdiastase blieben die Möglichkeiten Enzymwirkung—protoplasmatische Tätigkeit übrig, die einander gegenseitig ausschließen. Die Frage wird dann heißen: Ist die Zuckerbildung nach Adrenalin eine Enzymwirkung?, und in solchem Falle: Liegt eine Neubildung von Enzym oder eine Aktivierung des schon befindlichen Enzyms vor?

Die Ergebnisse der physiologischen Zuckerbildung machen es schon sehr wahrscheinlich, daß auch bei der Adrenalinwirkung die Diastase allein in Betracht kommt. Wenn weiter die Leber von R. esculenta reichliche Menge von latentem Enzym besitzt, ist es auch sehr wahrscheinlich, daß allein eine Aktivierung des Enzyms stattfindet. Bei R. fusca kam aber keine latente Diastase vor, was möglicherweise andeuten könnte, daß auch bei R. esculenta — sowie bei R. fusca — die Verhältnisse bei Adrenalinvergiftung anders liegen. Man muß dann zur Prüfung die verschiedenen Möglichkeiten durchgehen und vor allem mit der Möglichkeit als Arbeitshypothese anfangen, daß eine Aktivierung stattfindet.

Als die einfachste Möglichkeit wäre denkbar: die Leber enthält Diastase, deren Aktivator Kochsalz ist. Die Leber enthält zu wenig davon, um die Optimumwirkung der Diastase

zu erzielen. Bei der Adrenalinvergiftung wird die Leberzelle für NaCl zum Teil permeabel — ebenso wie der Muskel bei der Erregung. Das endosmierte Kochsalz aktiviert die Leberdiastase. In meiner oben zitierten Abhandlung habe ich ferner für die Alkaliphosphate eine Hemmungswirkung gegen Ptyalin erwiesen; diese Hemmung wird für das sekundäre Phosphat durch Kochsalz aufgehoben, dagegen nicht die Hemmungswirkung des primären Phosphates. Schließlich können die beiden Phosphate einander gegenseitig „neutralisieren", obwohl die H—OH-Ionenkonzentration hierbei etwas variieren kann. Neben dem Studium der Bedeutung des Kochsalzes wird es also notwendig sein, auch die in der Leber reichlich vorkommenden Phosphate zu berücksichtigen und eventuell andere Salze sowie Anelektrolyte zur Untersuchung heranzuziehen.

Die Bedeutung der Salze.

A. Kochsalz.

Um die Bedeutung des extracellulären Kochsalzes kennen zu lernen, braucht man nur die Ringer-Lösung durch andere Salzlösungen zu ersetzen. Es wird jedoch notwendig sein, das Blut als NaCl-haltig zu entfernen und durch eine entsprechende Flüssigkeit zu ersetzen. Selbstverständlich kann man schließlich das Blut durch eine indifferente Flüssigkeit ersetzen und die Leber in Ringer-Lösung suspendieren. Man wird dann über den eventuellen Unterschied einer Kochsalzdiffusion von den Gefäßen (Capillaren) und der Oberfläche der Leber orientiert sein. Als Ersatz der Ringer-Lösung kommen in Betracht: 1. Lösungen von Anelektrolyten, wie Rohrzucker oder Mannit, 2. Lösungen von Kaliumäthylsulfat, sekundärem und primärem Alkaliphosphat. Andere Salze sind hier nicht verwendet worden. Gelegentlich sei bemerkt, daß man die Ringer-Lösung durch eine isotonische Kochsalzlösung ohne Schaden ersetzen kann, wie mehrere obige Versuche zeigen. Bei einer so kurzen Versuchszeit sind also Kalium- und Calciumchlorid entbehrlich.

Ich werde mit den Rohrzuckerversuchen anfangen. Nur wenige Versuche sollen hier wiedergegeben werden. Der Rohrzucker wird nämlich, obwohl in ganz geringer Menge, von der

Leber invertiert. Versuche mit Suspension der Leber in Rohrzuckerlösung sind deswegen illusorisch. Dagegen kann man das Blut der Gefäße ohne weiteres durch Rohrzucker ersetzen. Die folgenden Versuche können also darüber orientieren, inwieweit die Salze der Gefäße entbehrlich sind oder nicht. Die Methodik war: Unterbindung des einen Leberlappens, Durchspülung der übrigen von der Aorta und (gewöhnlich) der Porta aus (Nr. 1). Durchspülung ohne vorherige Unterbindung (Nr. 2 u. 3). Die Ergebnisse sind eindeutig.

Tabelle X.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	Nicht durchspült Ringer-Lösung + A	0,926	5,2	5,6
	Durchspült Ringer-Lösung + A	0,970	5,7	5,9
	„ Ringer-Lösung	0,883	2,3	2,6
2	„ „ + A	0,585	5,55	9,5
	„ „	0,622	4,3	6,9
3	„ „ + A	0,668	5,6	8,4
	„ „	0,570	4,35	7,6

A = A:200000 Adrenalin. Nr. 1 Leber von Fusca, Nr. 2 und 3 von Esculenta.

Eine Durchspülung mit Rohrzuckerlösung ist also gleichgültig, was für die folgenden Untersuchungen von Bedeutung ist.

Die Versuche mit isotonischer Mannitlösung (an Fusca) haben ganz andere Ergebnisse geliefert. Zwei Versuchsserien sollen wiedergegeben werden. In der ersten Serie wurde der eine Lappen unterbunden, die beiden übrigen mit Mannitlösung durchströmt und nacher sämtlich in Ringer-Lösung übergeführt. (Im Versuch Nr. 3 wurde der erste Lappen mit Ringer-Lösung durchspült.) In der zweiten Serie wurden die Lappen nach Durchspülung mit Ringer-Lösung oder Mannitlösung in Mannitlösung übergeführt. A = 1:200000 Adrenalin.

Aus den drei ersten Versuchen geht hervor, daß allein eine Durchspülung mit Mannitlösung die Leber refraktär gegen Adrenalin macht. Die zweite Versuchsserie spricht aber dagegen, besonders Versuch Nr. 4. Doch kann man kein großes Vertrauen zu diesen Versuchen haben, da die Adrenalinlösung alt war. (Dieselbe Adrenalinlösung wie in den Ver-

Tabelle XI.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
	Serie a)			
1	Nicht durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,372	4,60	12,4
	Mit Mannitlösung durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,534	4,05	7,6
	Ringer-Lösung	0,522	3,55	7,0
2	Nicht durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,278	3,30	11,9
	Mit Mannitlösung durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,449	3,70	8,2
	Ringer-Lösung	0,446	3,40	7,6
3	Mit Ringer-Lösung durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,526	5,50	11,0
	Mit Mannitlösung durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,612	5,45	8,7
	Ringer-Lösung	0,516	3,45	6,7
	Serie b)			
4	Mit Ringer-Lösung durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,617	5,60	9,1
	Mannitlösung + A	0,590	5,70	9,6
	Mannitlösung	0,669	5,60	8,4
5	Mit Mannitlösung durchspült			
	Ringer-Lösung + A	0,720	2,50	3,4
	Mannitlösung + A	1,053	3,90	3,7
	Mannitlösung	0,840	3,10	3,7

suchen der Tabelle V Nr. 9 bis 11 und zu ungefähr derselben Zeit. Die Versuche werden nur erwähnt, weil prinzipiell sämtliche Versuchsprotokolle mitgeteilt werden sollen, wo keine Versuchsfehler exakt nachgewiesen worden sind. Hier wurde versäumt, die Reaktion der Adrenalinlösung festzustellen. Erst kurz nachher wurde die saure Reaktion nachgewiesen.)

Nun ist es eine sonderbare Tatsache, daß Rohrzucker indifferent ist, während die Durchspülung mit Mannitlösung allein genügt, um das Adrenalin später unwirksam zu machen. Die Salze werden doch in beiden Fällen entfernt. Die Erklärung dürfte darin zu suchen sein, daß Mannit nicht ganz indifferent ist. Bei der Durchspülung mit Mannitlösung wird die Leber fest, pastös im scharfen Gegensatz mit der normalen weichen Konsistenz derselben. Vielleicht wird Wasser aufgenommen, wodurch das Gewicht ansteigt. Da jedoch die Leber nach und

nach ihre normale Konsistenz wieder erhält, ist dies wenig wahrscheinlich. Wahrscheinlicher ist, daß die Durchspülungsflüssigkeit aus anderen Gründen (Lähmung der Gefäße?) unvollständig abläuft oder auch daß die Leberzellen selbst gelähmt werden und nicht wie normalerweise von dem Adrenalin erregt werden können. Die Mannitversuche können jedenfalls nicht über die Entbehrlichkeit des Kochsalzes in der Suspensions- und Durchströmungsflüssigkeit entscheiden.

Die Versuche mit Kaliumäthylsulfatlösung (KA-Lg wurden an R. esculenta und R. fusca (der letzte Versuch) angestellt.

Die Lebern wurden von der Aorta und Porta aus mit Rohrzuckerlösung gründlich durchströmt. (In dem Fusca-Versuch wurde fehlerhaft mit Ringer-Lösung durchströmt.)

Tabelle XII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰
1	100 ccm KA-Lg + A	0,984	12,50	12,7
	100 " do.	1,021	12,75	12,5
	100 " KA-Lg	0,761	10,23	13,4
2	100 " KA-Lg + A	0,656	7,60	11,4
	100 " do.	0,571	8,50	14,6
	100 " 0,7 % NaCl-Lg	0,481	5,70	12,0
3	100 " KA-Lg + A	0,572	6,10	10,7
	100 " KA-Lg	0,696	5,60	8,0
	100 " do.	0,695	5,15	7,4
4	100 " Ringer-Lsg. + A	0,523	4,15	7,9
	100 " KA-Lg + A	0,545	4,90	9,0
	100 " KA-Lg	0,410	2,30	5,5
5	100 " KA-Lg + A	0,870	9,45	10,9
	100 " do.	0,728	6,70	9,2
	100 " KA-Lg	0,814	4,65	5,3

Wie ersichtlich, ist in den Versuchen Nr. 1 und 2 an Esculenta jede Adrenalinwirkung ausgeblieben, was für eine entscheidende Bedeutung des Kochsalzes spricht. Die Leber entbehrt das für die Optimumwirkung der Diastase nötige Kochsalz, das dank dem Adrenalin aus der umgebenden Lösung zugeführt wird. Enthält diese Lösung kein Kochsalz, so muß das Adrenalin unwirksam bleiben. Diese von mir zuerst als eine erschöpfende Erklärung angenommene Folgerung ist nichts-

destoweniger als eine allgemeine Erklärung unhaltbar, wie die Versuche Nr. 3 bis 5 zeigen. Besonders der Versuch Nr. 4 zeigt, daß die Adrenalinwirkung ebenso ausgiebig bei Ab- wie bei Anwesenheit des Kochsalzes sein kann, trotzdem in den Versuchen Nr. 3 bis 5 nur 1:200 000 Adrenalin, während in den Versuchen Nr. 1 bis 2 1:100 000 verwendet wurden. Man muß demgemäß entweder annehmen, daß dem Kochsalz nur gelegentlich eine Bedeutung zukommt, wenn die Leber zufälligerweise sehr arm an Kochsalz ist, oder aber die Versuche sind nicht beweisend. Es ist denkbar, daß hier eine saure Adrenalinlösung verwendet wurde (ich war damals über die Bedeutung dieses Momentes noch nicht unterrichtet). Jedenfalls sind die positiven Ergebnisse entscheidend. Tatsache ist, daß die Adrenalinwirkung prinzipiell nicht durch eine aktive Veränderung der Lipoidmembran mit der Möglichkeit einer Endosmose des Kochsalzes erklärt werden kann. Inwieweit gelegentlich dieses Moment von Bedeutung sein kann, ist unentschieden und auch nach den Versuchen mit Äthylsulfatlösung minder wesentlich.

B. Phosphate.

In meiner oben zitierten Abhandlung über Diastasen wird bewiesen, daß beide Phosphate — sowohl das primäre wie das sekundäre Salz — eine sehr kräftige Hemmungswirkung gegenüber Ptyalin ausüben. Die Hemmung des sekundären Phosphates wird durch Kochsalz aufgehoben, dagegen war Kochsalz dem primären Phosphat gegenüber unwirksam. Andererseits kann das primäre Phosphat die Hemmung des sekundären Salzes aufheben und umgekehrt. Nun ist u. a. aus den Untersuchungen von Overton bekannt, daß die Muskelzellen ohne Beeinträchtigung ihrer Vitalität einige Zeit in isotonischer Lösung des sekundären Phosphates zu überleben vermögen. Dasselbe ist auch bei einer Mischung von 3 Teilen sekundärem und 1 Teil primärem Alkaliphosphat der Fall.

Es ist also möglich, den Einfluß der Phosphate auf die Zuckerbildung der Froschleber zu studieren, was voraussichtlich von Interesse wäre. Dies trifft auch in der Tat zu und die Ergebnisse sind ebenso überraschend wie interessant. Im folgenden sollen diese Ergebnisse wie gewöhnlich tabellarisch zusammengestellt werden. Ich fange mit R. fusca an. Es

war notwendig, die Versuchsanordnung in verschiedener Weise zu modifizieren, wie aus den Befunden hervorgehen soll. Deswegen wird mit den einfachsten Verhältnissen angefangen, daß die Leber nicht durchspült wurde.

Tabelle XIII.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	b) relativ %
1	100 ccm sek. Ph.[1]) + A	0,571	6,4	11,2	+ 4,2	+ 58
	100 " " " + A	0,614	7,1	11,6		
	100 " " "	0,580	3,8	7,2		
2	100 " " " + A	0,620	6,20	8,3	+ 0,8	+ 10
	100 " " "	0,675	6,75	7,8		
	100 " " "	0,375	3,75	7,2		
3	100 " " " + A	0,328	1,75	5,6	+ 0,5	+ 10
	100 " " "	0,482	2,45	5,1		
4	100 " " " + A	0,697	9,7	12,0	+ 3,4	+ 35
	100 " " "	1,146	11,2	9,6		

Von den 4 Versuchen zeigen Nr. 2 und 3 keine Vermehrung der Zuckerproduktion nach Adrenalin, Nr. 4 eine verhältnismäßig unbedeutende (doch war hier der Kontrollappen ziemlich groß) und nur im Versuch Nr. 1 kommt eine reichliche Zuckerbildung vor. Hier wurde aber 1:100 000 Adrenalin verwendet; in den übrigen Versuchen aber 1:200 000.

In den folgenden Versuchen wurden die Lebern mit Phosphatlösung ausgewaschen und nachher in Phosphatlösung übergeführt.

Tabelle XIV.

R. Fusca.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	b) relativ %
1	100 ccm sek. Ph. + A	0,768	6,6	8,6	+ 0,9	+ 11
	100 " " "	1,069	8,2	7,7		
	100 " " "	0,826	6,3	7,6		
2	100 " " " + A	0,776	10,80	13,9	+ 1,9	+ 14
	100 " " "	0,504	6,15	12,2		
	100 " " "	0,596	6,10	10,7		
3	100 " " " + A	0,754	6,40	8,5	+ 1,7	+ 24
	100 " " " + A	0,759	6,90	9,1		
	100 " " "	0,728	5,15	7,1		

[1]) Ph. = Phosphatlösung.

In den zwei letzten Versuchen ist eine verhältnismäßig geringe Vermehrung der Zuckerproduktion nach Adrenalin zu finden. Hier wurde 1:100 000 Adrenalin verwendet. Im Versuch Nr. 1 ist die Adrenalinwirkung höchst unbedeutend. Hier war die Adrenalinkonzentration 1:200 000.

In den folgenden Versuchen wurde ein Lappen (der erste) nicht, die zwei übrigen teils mit Rohrzuckerlösung (Nr. 1 bis 5), teils mit Phosphatlösung (Nr. 6 und 7) durchspült.

Tabelle XV.

R. Fusca.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
1	100 ccm sek. Ph. + A	0,745	7,90	10,6	} + 2,6	+ 24
	100 " " " + A	0,467	3,70	7,9		
	100 " " "	0,570	4,55	8,0		
2	100 " " " + A	0,652	7,30	11,2	} + 1,6	+ 14
	100 " " " + A	1,074	10,00	9,3		
	100 " " "	0,594	5,15	8,7		
3	100 " " " + A	0,728	5,75	8,0	} ± 0	0
	100 " " " + A	0,868	5,55	6,4		
	100 " " "	0,761	5,45	7,2		
4	100 " " " + A	0,690	3,30	5,0	} + 1,0	+ 20
	100 " " " + A	0,748	3,55	4,7		
	100 " " "	0,987	3,70	3,9		
5	100 " " " + A	0,834	5,30	6,4	} + 1,2	+ 20
	100 " " " + A	0,726	5,25	7,2		
	100 " " "	0,480	2,60	5,6		
6	100 ccm sek. Ph. + A	0,452	5,45	12,0	} + 0,8	+ 7
	100 " " " + A	0,455	5,30	11,7		
	100 " " "	0,494	5,50	11,1		
7	100 " " " + A	0,520	4,20	8,2	} + 1,4	+ 18
	100 " " " + A	0,566	5,35	9,5		
	100 " " "	0,290	2,20	7,5		

Sämtliche Versuche zeigen eine höchst unbedeutende Vermehrung der Zuckerproduktion nach Adrenalin (1:200 000, im letzten Versuch 1:100000). Wenn man damit die reichliche Zuckerbildung der Ringer-Leber nach Adrenalinvergiftung vergleicht, liegt die Vermutung auf der Hand, daß das Phosphat die Adrenalinwirkung stark herabsetzt. Man hat dann an die

Verhältnisse beim Ptyalin zu denken, wo die Hemmung nachgewiesen worden ist. Doch ist hierbei an den wesentlichen Unterschied zu denken, daß das Phosphat als undurchlässiges Salz doch nicht mit der intracellulären Diastase in Berührung kommt. Man hat weiter an das Fehlen des Kochsalzes zu denken, wobei jedoch daran zu erinnern ist, daß die nicht durchströmten, blut- und also kochsalzhaltigen Lebern genau wie die durchströmten sich verhalten. Übrig bleibt dann noch die Möglichkeit, daß das Adrenalin selbst von dem Phosphat angegriffen werden kann, was durch die alkalische Reaktion auch plausibel erscheint. Es ist auch ersichtlich, daß eine größere Adrenalinkonzentration tatsächlich eine starke Vermehrung der Zuckerbildung bewirkt, jedoch nicht überall, was man unter dieser Voraussetzung erwarten sollte.

Bei sämtlichen oben angegebenen Versuchen findet man ausnahmsweise das bemerkenswerte Verhalten, daß die Kontrollprobe ohne Adrenalin auch viel Zucker bildet. Aus den Tabellen II und besonders IV der vorhergehenden Abhandlung ist die durchschnittliche Zuckerbildung in den verschiedenen Monaten für R. fusca festgestellt worden. Aus der betreffenden Tabelle IV ist ersichtlich, daß der durchschnittliche Zuckergehalt im September **5,5** ‰ (12 Versuche) und im Oktober **7,7** ‰ (14 Versuche) beträgt. Von Versuchen mit Phosphat sind im September 16 ausgeführt worden. Der durchschnittliche Zuckergehalt war hier **8** ‰ oder 2,5 ‰ mehr als bei den Ringer-Versuchen. Im Oktober wurden nur 4 Phosphatversuche mit durchschnittlich **10,1** ‰ Zuckerbildung ausgeführt oder 2,4 ‰ mehr als die Ringer-Lebern bildeten. Wegen der geringen Versuchszahl ist jedoch der Durchschnittswert hier weniger zuverlässig.

Um diese Verhältnisse nunmehr sicherzustellen, wurden folgende Versuche (Tab. XVI) angestellt:

Die Versuche bestätigen also vollinhaltlich, daß die Lebern, in Phosphatlösung suspendiert, mehr Zucker als die Ringer-Leber bilden. Aus dem Vergleich der Septemberversuche der Phosphatlebern mit den Ringer-Lebern wurde ein Überschuß von **2,5** ‰ oder **46** % zugunsten der Phosphatlebern gefunden. Die Durchschnittswerte der Tabelle XVI sind **4,3** ‰ und **74** %. Aus der Tabelle IV wurde der Durchschnittswert

Tabelle XVI.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker $^0/_{00}$	Differenz a) absolut $^0/_{00}$	Differenz b) relativ $^0/_0$
1	Nicht durchspült:					
	100 ccm Ringer-Lsg.	0,260	2,00	8,0		
	100 „ sek. Ph.	0,310	3,15	10,0	+ 2,0	+ 25
2	100 „ Ringer-Lsg.	0,495	2,45	5,0		
	100 „ sek. Ph.	1,016	11,70	11,5	+ 6,5	+ 130
3	Mit Ringer-Lsg. durchspült:					
	100 ccm Ringer-Lsg.	0,450	2,45	5,4		
	Mit Phosph.-Lsg. durchspült:					
	100 ccm sek. Ph.	0,452	3,75	8,4	} + 4,4	+ 81
	100 „ „ „	0,644	7,20	11,2		
4	Nicht durchspült:					
	100 ccm Ringer-Lsg.	0,378	2,7	7,2		
	Mit Phosphat-Lsg. durchsp.:					
	100 ccm sek. Ph.	0,310	3,55	11,5	} + 4,2	+ 59
	100 „ „ „	0,292	3,30	11,3		
5	Mit Ringer-Lsg. durchspült:					
	100 ccm pr. + sek. Ph.	0,738	5,50	7,5		
	100 „ sek. „	1,500	10,00	6,9	} + 0,8	+ 16
	100 „ „ „	0,586	3,75	6,4		

der vermehrten Zuckerbildung nach Adrenalin zu **4,5 $^0/_{00}$** oder **59 $^0/_0$** berechnet. Es ist demzufolge klar, daß das Phosphat eine Vermehrung der Zuckerbildung der Leber bewirkt, die von ungefähr derselben Größenordnung wie die Adrenalinwirkung ist.

Aus den Tabellen XIII, XIV und XV geht weiter hervor, daß die vermehrte Zuckerbildung nach Adrenalin bei Phosphatlebern durchschnittlich **1,5 $^0/_{00}$** oder **18 $^0/_0$** entspricht, während die physiologischen Variationen in der vorhergehenden Abhandlung zu **1,1 $^0/_{00}$** oder **17 $^0/_0$** gefunden worden sind. Es liegt also die Differenz beinahe innerhalb den Fehlergrenzen. Da aber die vermehrte Zuckerbildung nach Adrenalin konstant ist, so darf man folgern, daß tatsächlich eine solche auch hier vorliegt. Sie ist aber gegenüber den Unterschieden der Phosphat- und Ringer-Lebern durchaus unbedeutend.

Aus den sämtlichen Tatsachen kann man wichtige Folgerungen betreffs der Adrenalinwirkung ziehen. Die Leber der R. fusca bildet physiologisch eine gewisse Menge Zucker, die durch eine Diastase bedingt ist. Diese Diastasewirkung

kann durch Phosphat oder Adrenalin einen größeren Umfang erreichen. Die Vermehrung der Zuckerbildung ist aber beschränkt. Ist einmal z. B. durch Phosphat die Vermehrung erzielt, so läßt sich durch Adrenalin nur unbedeutend mehr erreichen. Diese vermehrte Diastasewirkung muß entweder einer Neubildung oder einer Aktivierung des Enzyms entsprechen. Es ist aber durchaus unwahrscheinlich, daß nur so und soviel Enzym neugebildet werden kann und weiter so gut wie nichts. Dagegen ist es sehr wahrscheinlich, anzunehmen, daß eine gewisse konstante Diastasemenge nur zu einem gewissen Grade aktiviert werden kann.

Man muß sich dann fragen, wie eine solche Aktivierung zustande kommt. Wenn Phosphat die Diastase aktiviert, hat man in erster Linie an die bekannte „Puffer"wirkung derselben gegenüber der Wasserstoffionenkonzentration zu denken, wie besonders die schönen Untersuchungen von Sörensen erwiesen haben. Bekanntlich wird die Diastasewirkung eben durch eine geringe Steigerung der H-Ionenkonzentration sehr herabgesetzt. Eben die Versuche mit primärem Phosphat und Ptyalin (vgl. meine Abhandlung über Diastase) zeigen, welch kleine Vermehrung der H-Ionenkonzentration genügt, um die Diastasewirkung zu hemmen, ohne daß dieselbe geschädigt wird. In einem Versuch (S. 430) war die Zuckerbildung durch Ptyalin ohne Phosphat 25 mg, nach Zusatz von 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-primärem Phosphat zu 10 ccm Stärkelösung aber nur 18,4 mg, und nach Zusatz von 0,1 ccm $^{n}/_{1}$-Phosphat nur 1,5 mg, trotzdem also die Lösung nur $^{n}/_{100}$-primäres Phosphat enthielt. Das sekundäre Phosphat vermag nun die schädliche Wirkung des primären Salzes aufzuheben. In einem Ptyalinversuch (S. 434) war die Zuckerbildung ohne Phosphatzusatz 29,6 mg, mit 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-primärem Phosphat dagegen nur 5,8 mg, bei einem Zusatz von 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-primärem und 0,1 ccm $^{n}/_{100}$-sekundärem Phosphat aber 28,4 mg.

Bei der Leber liegen nun die Verhältnisse anders, indem das sekundäre Phosphat nicht mit der Diastase in Berührung kommt. Hält man aber fest, daß es auf die H-Ionenkonzentration ankommt, so ist es klar, daß ein Auftreten von Säuren, da ja tatsächlich Milchsäure vorkommt, eben durch die Gegenwart des sekundären Phosphats in der Außenlösung

verhindert werden muß. Die Milchsäure diffundiert immer heraus, und eine saure Reaktion in den Leberzellen wird also nicht auftreten können. Tatsächlich kann man auch z. T. die obigen Befunde bei Leberbrei selbst reproduzieren.

Tabelle XVII.

Versuch Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Zucker mg	Zucker ‰
1	Brei 10 ccm 0,3%ige NaCl-Lsg.	0,671	1,0	1,5
	„ 10 „ H_2O + 0,05 ccm n/10-sek. Ph.	0,485	0,80	1,8
	„ 10 „ H_2O + 0,10 „ „ „	0,870	1,60	1,8
2	„ 10 „ H_2O	0,616	3,0	4,9
	„ 10 „ 0,3%ige NaCl-Lsg.	0,557	2,75	5,0
	„ 10 „ 0,3%ige NaCl-Lg. + 0,01 ccm n/10-sek. Ph.	0,941	7,0	7,4
3	„ 10 „ 0,3%ige NaCl-Lsg.	0,492	2,25	4,6
	Brei Alkoholbeh. 0,3%ige „	0,456	1,95	4,3
	„ „ „ 0,3%ige „ + 0,01 ccm n/10-sek. Ph.	0,516	2,15	4,1
4	Brei 10 ccm H_2O	0,577	2,5	4,5
	„ 10 „ „ + 0,1 ccm n/10-sek. Ph.	0,531	3,0	5,6
	„ 10 „ „ + 0,2 „ „ „	0,701	3,5	5,0
5	„ 10 „ „	0,772	3,9	3,9
	„ 10 „ „ + 0,02 „ „ „	0,803	4,7	5,3
	„ 10 „ „ + 0,05 „ „ „	0,940	4,5	4,8
6	„ 10 „ „	0,431	2,50	5,5
	„ 10 „ „ + 0,1 „ „ HCl	0,452	1,25	2,9
7	Brei 20 ccm 0,5%ige NaCl-Lsg.	0,873	25,0	26,3
	„ 20 „ H_2O + 0,1 ccm n/100-prim. Ph.	0,982	18,0	18,3
8	„ 15 „ 0,5%ige NaCl-Lsg.	0,958	18,75	19,6
	„ 15 „ 0,5%ige NaCl-Lsg. + 0,1 ccm n/100-prim. Ph.	0,774	9,0	11,6
9	„ 20 „ H_2O	1,282	20,0	15,6
	„ 20 „ „ + 0,1 ccm n/100-sek. Ph.	0,923	13,1	14,2
	„ 20 „ „ + 0,1 „ n/100-prim. „	0,708	7,8	11,0

Die Versuche Nr. 1 bis 6 sind mit R. fusca angestellt. Aus denselben geht hervor, daß ein Zusatz von sekundärem Phosphat eine deutlich fördernde Wirkung (Nr. 2, z. T. auch Nr. 5) ausübt oder indifferent ist. Dies ist beim Vergleich mit den Ptyalinversuchen, in denen das sekundäre Phosphat eine starke Hemmung ausübte, bemerkenswert und spricht dafür, daß bei passender Konzentration und Versuchsanordnung (über-

lebende Leber in Phosphatlösung) eine Aktivierung eintritt. Hierfür spricht der Versuch mit Zusatz von Salzsäure (Nr. 6). Man dürfte a priori annehmen, daß die Leber, dank dem Eiweiß und den Phosphaten, diese äußerst geringe Salzsäuremenge hätte neutralisieren können. Trotzdem macht sich die Hemmung stark geltend.

Die Versuche Nr. 7 bis 9 sind mit R. esculenta ausgeführt worden. Sie sind also mit den übrigen nicht direkt vergleichbar. Hier zeigen die Versuche mit primärem Phosphat eine starke Hemmung (in Versuch Nr. 7 war die Leber noch etwas bluthaltig), das sekundäre Phosphat ist indifferent. Der eine Versuch besagt jedoch nicht sehr viel. Sämtliche Lebern waren durch Durchströmung mit Rohrzuckerlösung oder Ringer-Lösung blutfrei gemacht.

Die Folgerung scheint deswegen berechtigt, daß das sekundäre Phosphat bei den Versuchen mit überlebenden Lebern aus dem Grunde eine vermehrte Zuckerbildung hervorruft, weil die für die Diastasewirkung zweckmäßigste Ionenkonzentration dadurch zustande kommt. Dieser Zuckerbildung entspricht also eine Aktivierung der Diastase, keine Neubildung.

Wir gehen dann zu der Frage über: Läßt sich die Adrenalinwirkung in Übereinstimmung hiermit erklären? Wenn man dazu Stellung nehmen will, so muß man berücksichtigen, daß hier kein „Puffer" der Außenlösung vorliegt, der zum Empfang der schädlichen H-Ionen bereit ist. Ist also die Adrenalinwirkung dadurch bedingt, so muß die Leber selbst die Neutralisation ausführen können. Hierüber können uns einige früher erwähnte Versuche orientieren. In der Tabelle VI ist bewiesen, daß ein ganz kleiner Zusatz von Salzsäure die Adrenalinwirkung ganz wesentlich herabsetzt. Wenn dies nun der Fall ist und weiter Adrenalin und sekundäres Phosphat ungefähr dasselbe betreffs Zuckerbildung leisten, so scheint auch die Folgerung richtig, daß die Wirkung des Adrenalins mit der Phosphatwirkung übereinstimmt. Auch beim Adrenalin kommt demgemäß keine Neubildung, wohl aber eine Aktivierung des diastatischen Enzyms vor.

Stimmt man aber dem bei, daß das Adrenalin eine Optimumreaktion der Leber für die Diastase hervorruft, so muß dies entweder durch Verhinderung einer Säurebildung (voraus-

sichtlich Milchsäurebildung) geschehen, oder aber dadurch, daß eine Verschiebung der Verteilung der Säuren und Basen innerhalb der Leberzellen stattfindet. Die Phase, wo die Zuckerbildung stattfindet, wird also minder stark sauer als die übrigen sein.

Auch diesen Möglichkeiten läßt sich experimentell nähertreten. Wird nämlich eine eventuelle Säurebildung durch Adrenalin verhindert, so dürfte man nach der Einwirkung des Adrenalins, wenn dann die Leber in Brei übergeführt wird, auch hier eine größere Zuckerbildung finden, da die postmortale Säurebildung wohl in gleichem Maße für beide Lappen — Adrenalin- und Kontrollappen — fortbesteht. Hätte aber nur eine Verschiebung von Säuren und Basen stattgefunden, so müßte der Unterschied bei der Breibildung, wo besonders nach dem Zusatz des Wassers die Phasen doch stark verändert werden, ausgeglichen werden. Hierüber können die folgenden Versuche unterrichten.

Versuch 1.

Leber von R. fusca, mit Ringer-Lösung durchströmt. 1. 0,346 g mit 100 ccm Ringer-Lösung + A (= 1 : 200000). 2. 0,318 g mit 100 ccm Ringer-Lösung. 3. 0,305 g mit 15 ccm H_2O als Brei. Nach 8 Stunden wurden die Leberlappen Nr. 1 und 2 mit 15 ccm Wasser zerstoßen. In 5 ccm von beiden wurde der Zucker bestimmt.

Gesamtzucker in 1. = 14,8‰, in 2. = 11,0‰ und in 3. = 7,3‰. Nach 10 Stunden wurden die übriggebliebenen Mischungen von Leberbrei und Wasser auf Zucker verarbeitet. Neubildung gegenüber der ersten Bestimmung in 1. = 8,7‰, in 2. = 11,1‰.

Versuch 2.

Genau wie in Versuch 1. 1. 0,397 g Ringer-Lösung + A = 3,10 mg = 7,9‰. 2. 0,445 g Ringer-Lösung allein = 2,30 mg = 5,0‰. 3. 0,399 g + 15 ccm H_2O = 3,40 mg = 8,5‰.

Der Leberbrei von 1. und 2. nach Herausnahme von 5 ccm zur Zuckerbestimmung ergab nach Digestion während 12 Stunden eine Neubildung von Zucker in 1. = 5,4‰, in 2. = 7,6‰.

Versuch 3.

Wie in Versuch 1 und 2. 1. 0,396 g Ringer-Lösung + A = 7,3‰. 2. 0,578 g Ringer-Lösung = 4,0‰. 3. 0,542 g Alkoholbehandlung + 10 ccm H_2O = 4,4‰.

Hier wurden jedoch schließlich die Lebern von 1. und 2. nach Verweilen in Ringer-Lösung mit Alkohol behandelt. Der Alkoholextrakt

wurde eingetrocknet, in Wasser gelöst und nach Reinigung mit Kaolin zur Zuckerbestimmung verwendet. Der Rückstand der Leber von 1. und 2. ergab, mit Wasser während 12 Stunden digeriert, 3,8 und 5,0 °/₀₀.

Von einer Neubildung gegenüber der Kontrolle ist also bei der Adrenalinleber als Brei keine Rede. Eher findet man weniger Zucker. Für die Versuche Nr. 1 und 2 ist hierbei zu bemerken, daß die Adrenalinleber nach Verweilen in Ringer-Lösung etwas mehr Zucker als die Kontrolle enthielt. Dieser Mehrbetrag wird bei der folgenden Digestion mit Wasser als Brei ausgeglichen. Schließlich findet man also tatsächlich überall denselben Zuckergehalt.

In einem Versuche wurde eine saure Adrenalinlösung verwendet. Nach 8 Stunden entsprach die Ringer-Lösung einem Säuregrad von 0,5 ccm $^{n}/_{10}$-HCl. Hier wurde weniger Zucker bei der Adrenalinleber als bei der Kontrolle gebildet (5,0 $^{0}/_{00}$ gegen 7,7 $^{0}/_{00}$). Bei der folgenden Digestion als Brei wurde ebenfalls bei der Adrenalinleber weniger Zucker gebildet (2,1 $^{0}/_{00}$ gegen 5,2 $^{0}/_{00}$), trotzdem diese Leber nach Verweilen in Ringer-Lösung weniger Zucker enthält als die Kontrolle.

In einem anderen Versuche, wo die Adrenalinwirkung nur unbedeutend war (Adrenalinlösung weniger sauer), nämlich 7,4 $^{0}/_{00}$ gegen 7,0 $^{0}/_{00}$, wurde später bei der Kontrolle als Brei eine Neubildung von 4,5 $^{0}/_{00}$ gegen 4,0 $^{0}/_{00}$ gefunden.

Sämtliche Versuche sprechen also entschieden für die Möglichkeit, daß das Adrenalin nicht durch Verhinderung einer Säurebildung, sondern durch Verschiebungen der Säure-Basekomponenten in den verschiedenen Phasen wirkt. Bei etwas größerem Säuregehalt, z. B. durch Zusatz von Salzsäure, wird eine solche Verschiebung unmöglich gemacht oder sie ist jedenfalls unvollständig.

Nun ist oben (Tabelle VII) erwiesen, daß die normale Zuckerbildung nicht durch Zusatz von sehr wenig Salzsäure beeinträchtigt wird. Dies ist auch jetzt erklärlich. Die säureaufnehmenden Phasen nehmen den extra zukommenden Säurebetrag auf und die normale Zuckerbildung kann ungestört fortgehen. Wenn also diese säureaufnehmenden Phasen von der hindurchgehenden Salzsäure besetzt werden, kann die durch Adrenalin bedingte Verschiebung nicht stattfinden und die Adrenalinwirkung muß ausbleiben bzw. in geringem Maße fort-

gehen, je nachdem diese Phasen voll besetzt worden sind oder nicht.

Was bis jetzt dargetan worden ist, gilt ausschließlich für R. fusca.

Ich gehe nun zu der Besprechung der Verhältnisse bei R. esculenta über und verweise zunächst auf die folgende Tabelle.

Tabelle XVIII.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
	Mit sek. Ph. durchspült:					
1	100 ccm sek. Ph. + A	0,510	7,40	14,5	+ 4,0	+ 36
	100 „ „ Ph.	0,690	7,25	10,5	—	—
2	100 „ „ Ph. + A	0,667	5,95	9,0	+ 1,5	+ 20
	100 „ „ Ph.	0,840	6,55	7,8 }		
	100 „ „ „	0,600	4,25	7,1 }		
3	100 „ „ Ph. + A	0,626	9,10	14,5	+ 5,1	+ 55
	100 „ „ Ph.	0,842	7,90	9,4	—	—
	Mit sek. Ph. durchspült:					
4	100 ccm Ringer-Lsg. + A	0,565	5,65	13,75	+ 1,75	+ 13
	100 „ sek. Ph. + A	0,485	4,85	11,00	− 1,00	− 8
	100 „ „ Ph.	0,495	4,95	12,00	—	—
5	100 „ Ringer-Lsg. + A	0,586	8,9	14,5	− 3,0	− 22
	100 „ sek. Ph. + A	0,740	13,6	18,1	+ 0,6	+ 3
	100 „ „ Ph.	0,715	12,5	17,5	—	—
	Mit Ringer-Lsg. durchspült:					
6	100 ccm Ringer-Lsg. + A	0,668	6,00	8,8	− 4,4	− 50
	100 „ Ringer-Lsg.	0,570	4,25	7,5	− 6,7	− 90
	100 „ sek. Ph.	0,578	7,60	13,2	—	—

Die Ergebnisse stimmen mit den Befunden bei R. fusca recht gut überein. Die unwesentlichen Differenzen sind wohl aus den weniger zahlreichen Versuchen erklärlich. Wenn man aber daraus Folgerungen ziehen will, muß man sagen, daß die Versuche eher für eine geringere Bedeutung des Phosphats bei Esculenta sprechen. Besonders die Versuche Nr. 1, 2 und 3 zeigen eine Vermehrung der Zuckerbildung nach Adrenalin, die wohl mit der der Ringerlösungsversuche zu konkurrieren vermag. Allerdings fallen die Versuche Nr. 4 bis 6 in eine andere Richtung.

Tabelle XIX.

Vers. Nr.	Behandlung	Gewicht des Lappens g	Menge des Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	b) relativ %
1	**Mit sek. Ph. durchspült:**					
	100 ccm Ringer-Lsg.	0,765	7,35	9,6	—	—
	100 „ sek. Ph.	0,602	6,20	10,9	+ 1,3	+ 14
2	**Nicht durchspült:**					
	100 ccm Ringer-Lsg.	0,310	3,45	11,1	—	—
	Mit sek. Ph. durchspült:					
	100 ccm sek. Ph.	0,429	4,00	9,3	} − 1,0	− 10
	100 „ „ „	0,240	2,60	10,8		
3	**Nicht durchspült:**					
	100 ccm Ringer-Lsg.	0,608	6,80	11,2	—	—
	Mit sek. Ph. durchspült:					
	100 ccm sek. Ph.	0,670	6,70	13,3	} + 1,4	+ 13
	100 „ „ „	0,440	4,40	11,8		

Diese Versuche zeigen zur Evidenz, daß die Zuckerbildung bei Verweilen in Phosphatlösung gegenüber Ringer-Lösung wenn überhaupt vorhanden so doch recht unbedeutend ist. Diese Ergebnisse sind eindeutig und stehen in scharfem Widerspruch zu den bei R. fusca, was an und für sich interessant ist, besonders, wenn man an die in der vorhergehenden Abhandlung beschriebenen Unterschiede der beiden Lebern erinnert. Dort wurde die Bedeutung des Alkohols und des Kochsalzes zugunsten der Esculenta-Leber erwiesen. Hier findet man das Entgegengesetzte: das Verhältnis des Phosphats liegt zugunsten der Fusca-Leber.

Wenn dies aber der Fall ist, so hat man keinen Grund anzunehmen, daß die Adrenalinwirkung bei der Esculenta-Leber mit derjenigen bei der Fusca-Leber genau übereinstimmt, mit anderen Worten: die reaktionellen Verhältnisse sind bei der Esculenta-Leber nicht entscheidend. Daß aber auch eine saure Reaktion hier jedenfalls der physiologischen Zuckerbildung schadet, ist in der Tabelle XVII wahrscheinlich gemacht. Man darf deswegen eher annehmen, daß die Esculenta-Leber an sich die Optimumreaktion der Diastasewirkung besitzt, die zwar herabgesetzt, nicht aber wesentlich verbessert werden kann. Bei dieser Annahme hat man die Analogie betreffs des Kochsalzes bei der Fusca-Leber. Wenn Kochsalz hier nicht aktivierend wirkte, war die einleuchtende Erklärung, daß die Fusca-Leber schon genügend

davon besaß, um ihre — übrigens geringe — Diastasemenge zu aktivieren.

Wenn folglich die Reaktion bei der Esculenta-Leber nicht für die Erklärung der Adrenalinwirkung zureicht, muß man andere Möglicheiten zur Untersuchung heranziehen.

Die Bedeutung der Lipoide.

Es liegt unzweifelhaft sehr nahe, an eine Bedeutung der Zelllipoide bei der Adrenalinwirkung zu denken, nachdem das Phosphat sich bei Esculenta weniger wirkungsvoll erwiesen hat, dies um so mehr, als diese Lipoide sich als Hemmungskörper gegenüber der Diastase erwiesen haben. Hierzu kommt das wesentliche Moment, daß nicht die Gegenwart der Lipoide an sich, sondern eben ihre physiologische Verbindung mit den Zellenbestandteilen (der Diastase selbst?) entscheidend ist, wie in der vorhergehenden Abhandlung gezeigt worden ist. Es ist demzufolge denkbar, daß die Erregung des Adrenalins eine Änderung dieser physiologischen Verbindung zwischen den Lipoiden und den Zellenbestandteilen bewirkt, durch die die Hemmungswirkung der Lipoide herabgesetzt werden muß. Daß eine solche Erregung Änderungen der Lipoidverbindungen hervorrufen sollte, kann unmöglich befremdend wirken. Die zahlreichen Beobachtungen über die Erregbarkeit der Lipoidmembran sprechen entschieden für eine solche Möglichkeit (siehe hierüber: Bang, Chemie und Biochemie der Lipoide, S. 178 f.).

Ist aber diese Möglichkeit auch für Adrenalin zutreffend? Hier hat man es doch nicht allein mit einer Erregung der Lipoidmembran, sondern eventuell mit einer solchen der intracellulären Lipoide zu tun.

Hier muß, wie immer, das Experiment entscheiden. Gelingt es in einer Weise eine Änderung der intracellulären Zelllipoide zu bewirken und wird diese Änderung ebenfalls von einer Zuckerbildung begleitet, so ist es gewiß sehr wahrscheinlich, daß die Adrenalinwirkung bei Esculenta nach demselben Mechanismus stattfinden muß. Dies um so mehr, als man nach den Erfahrungen bei R. fusca unmöglich darüber im Zweifel sein kann, daß die Zuckerbildung durch Adrenalin einer Fermentwirkung entspricht.

Nun wissen wir, daß die Narkotica durchlässig sind.

Weiter werden diese Narkotica (hier kommen nur die indifferenten in Betracht) sicher von den intracellulären Lipoiden aufgenommen. Man nimmt nun an, daß die Narkose eben durch die von der Aufnahme des Narkoticums bedingten Änderungen der intracellulären Lipoide bedingt ist, obwohl man von dem näheren Charakter dieser Änderungen sich keine Rechenschaft ablegen kann. Wir haben anderseits gesehen, daß dieselben Narkotica durch Entfernung der Lipoide die Leberdiastase zu aktivieren vermögen. Hieraus geht als Arbeitshypothese hervor: Die Narkotica vermögen vielleicht schon durch die Veränderung der Lipoidverbindungen ohne Entfernung der Lipoide eine Zuckerbildung hervorzurufen. Es ist klar, daß die Dosierung der Narkotica so gewählt werden muß, daß die Leber nicht geschädigt wird. Ich verdanke die im folgenden benutzten Data über die Konzentration der Narkotica meinem Freunde Prof. Overton (mit Ausnahme des Acetons, wo es versäumt wurde, die Angaben zu erhalten).

Tabelle XX.
Esculenta.

Versuch-Nr.	Behandlung	Gewicht d. Lappens g	Menge d. Zuckers mg	Zucker ‰	Differenz a) absolut ‰	Differenz b) relativ %
1	100 ccm Ringer-Lsg. + 4,5 % Alkoh.	0,705	10,00	17,2	+ 7,3	+ 73
	100 " "	0,940	9,65	10,3	—	—
	100 " "	0,778	7,20	9,4	—	—
2	100 " " + 4,5 % Alkoh.	0,848	10,00	16,3	+ 6,0	+ 58
	100 " "	0,615	5,50	11,6	—	—
	100 " "	0,858	6,25	9,1	—	—
3	100 " " + 2,7 % Alkoh.	0,850	11,70	13,8	+ 1,8	+ 15
	100 " "	1,082	13,30	12,3	—	—
	100 " "	0,696	8,10	11,7	—	—
4	100 ccm Ringer-Lsg. + 0,5 % Äther	0,502	3,65	7,3	+ 1,3	+ 22
	100 " "	0,392	2,35	6,0	—	—
5	100 ccm Ringer-Lsg. + 4 % Aceton	0,960	16,4	17,1	+ 8,3	+ 94
	100 " "	1,400	12,35	8,8	—	—

Sämtliche Lebern wurden mit Ringer-Lösung durchspült.

Die Hypothese ist also vollinhaltlich bestätigt worden: **Durch Einwirkung der indifferenten Narkotica in einer Kon-**

zentration, die der Vitalität der Leberzellen nicht schadet, auf die Leberzellen wird eine vermehrte Zuckerbildung erzielt, deren Größe sehr wohl mit der Adrenalinwirkung konkurrieren kann. Man kann mit gutem Grunde annehmen, daß diese Wirkung durch eine Veränderung der intracellulären Lipoidverbindungen bedingt ist, von welcher wir wissen, daß sie reversibel ist. Wenn man damit vergleicht, daß bei Leberbrei eine Entfernung der Lipoide (unter Zusatz von Kochsalz bei Verwendung von Alkohol) eine Aktivierung der Leberdiastase bedingt, so ist der Mechanismus bei der überlebenden Leber unzweifelhaft derselbe. Nur ein Teil der Diastase ist aktiv, ein anderer größerer oder geringerer Teil derselben wird durch die Veränderung der Lipoide freigemacht. Das Adrenalin bewirkt ebenfalls eine Vermehrung der Fermentwirkung. Die reaktionellen Änderungen sind hier von untergeordneter Bedeutung. Demnach ist die Folgerung berechtigt, daß das Adrenalin ebenfalls ähnliche Veränderuugen der intracellulären Leberlipoide bedingt. Die Erregung durch Adrenalin, die nach der Auffassung Langleys die sympathischen Endapparate trifft, pflanzt sich in das Zellinnere fort und hier vor allem in die intracellären Lipoide.

Es ist weiter aus der Tabelle XX ersichtlich, daß die Größe der Zuckerbildung von der Quantität des Narkoticums abhängig ist. Man hat es also mit größeren oder geringeren Veränderungen der Zellipoide zu tun und damit entsprechender Wirkung der Leberdiastase.

Die zuckermobilisierende Wirkung der Narkotica verdient auch von einem anderen Gesichtspunkte aus ein nicht geringes Interesse. Der Botaniker Prof. Johannesen und seine Schüler haben bewiesen, daß die Narkose von Pflanzen von einer Zuckerbildung begleitet ist. Man hat wohl Grund anzunehmen, daß auch bei den Pflanzen die Wirkungsweise eine ähnliche ist. Jedenfalls ist es wichtig, konstatieren zu können, daß Tiere und Pflanzen sich übereinstimmend verhalten. Es wäre dann von besonderem Interesse, wenn es sich herausstellen würde, daß man auch bei Pflanzen eine Zuckerbildung nach Adrenalin hervorrufen könnte. Ist aber tatsächlich der Angriffspunkt des Adrenalins der sympathische Endapparat, so läßt sich bei Pflanzen keine solche Zuckerbildung erzielen.

Wir haben in der ersten Abhandlung gefunden, daß nach Entfernung der Lipoide bei Leberbrei eine starke Zuckerbildung eintritt. In der Tabelle XX ist nachgewiesen, daß schon die Veränderungen der Lipoidverbindungen genügen, um Zuckerbildung hervorzurufen. Die Konsequenz dieser Tatsachen muß sein, daß ein Zusatz einer geringen Menge des Narkoticums zum Leberbrei ebenfalls hier eine vermehrte Zuckerbildung hervorrufen muß. Dies ist auch in der Tat der Fall, soweit man nach einem Versuch urteilen kann.

Versuch.

Eine Esculenta-Leber wurde vollständig mit Rohrzuckerlösung durchspült. 1. 1,297 g mit 20 ccm H_2O = 10 mg Zucker oder 8,7 ‰. 2. 1,815 g mit 18 ccm H_2O + 2 ccm 90 %igem Alkohol = 20 mg oder 11,0 ‰. 3. 1,215 g nach Alkoholbehandlung mit 20 ccm H_2O + 0,1 ccm 26 %iger NaCl-Lösung versetzt = 36,0 mg oder 28,7 ‰.

Sollte der Versuch sich bestätigen lassen, was ich nicht bezweifle, so ist man berechtigt zu folgern, daß es gelingt, beim Leberbrei den Mechanismus der Adrenalinwirkung klarzustellen, zwar nicht mit dem Adrenalin selbst, sondern mit den Narkotica. Hierdurch wird sich die Möglichkeit eröffnen, tiefer in das Verständnis der Adrenalinwirkung einzudringen.

Die Versuche mit R. fusca (siehe vorhergehende Abhandlung) haben erwiesen, daß die Alkoholbehandlung hier weit weniger effektiv als bei R. esculenta ist. Nichtsdestoweniger haben doch einige Versuche einen geringeren, aber deutlichen Einfluß der Entfernung der Lipoide erwiesen. Es ist deswegen nicht ohne Bedeutung, nachzusehen, wie die Fusca-Leber sich bei der Narkose verhält.

Versuch.

Nicht durchspülte Leber von R. fusca. 1. 0,305 g mit 95 ccm Ringer-Lösung und 5 ccm 90 %igem Alkohol = 4,85 mg Zucker oder 15,9 %. 2. 0,310 g mit 100 ccm Ringer-Lösung = 4,0 mg oder 13 % 3. 0,315 g mit 100 ccm Ringer-Lösung = 4,0 mg oder 12,7 %.

Auch hier kommt also eine Aktivierung vor, die, nach dem einen Versuch zu urteilen, jedoch geringer ist, als bei R. esculenta. Dies durfte man auch erwarten.

Diese Tatsache zeigt ebenso wie die Phosphat-Adrenalinversuche, daß keine scharfen Gegensätze zwischen Fusca und Esculenta vorkommen. Es machen sich dieselben Momente geltend, aber in verschieden großem Maßstabe. Dies Verhalten

ist eben von großer Bedeutung, wobei die verschiedenen Momente bei dem einen oder anderen Frosche schärfer hervortreten. Ihre Beurteilung wird dann leichter und die Verhältnisse mehr übersichtlich. Ich habe sie deswegen auch etwas schematisch darzustellen versucht.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

In der ersten Abhandlung wurde bewiesen, daß die Froschleber in Ringer-Lösung mit unveränderten Eigenschaften überlebt, und daß sie unter diesen Bedingungen Zucker bildet. Die Zuckerbildung der verschiedenen Leberlappen stimmt gut überein. Es wurde weiter bewiesen, daß die überlebende Leber eine Diastase enthält, die auch für die vitale Zuckerbildung verantwortlich ist. Schließlich wurde nachgewiesen, daß bei R. esculenta eine reichliche Menge Diastase latent vorkommt, die bei der physiologischen Zuckerbildung sich nicht geltend machen kann. Die Ursachen hierfür sind die Zellipoide. Doch ist nicht allein ihre bloße Gegenwart für die Hemmung verantwortlich, vielmehr können die Lipoide mit der Diastase zusammen existieren, ohne daß eine Hemmung eintritt. Das Wesentliche ist die Art und Weise, in der diese Lipoide in der Leber und in dem Leberbrei vorkommen. Die R. fusca enthält keine oder nur geringe Mengen latenter Diastase.

Die Diastase wird ganz analog dem Ptyalin durch Kochsalz aktiviert, und zwar bei Esculenta konstant, bei Fusca nur ausnahmsweise, weil hier für die geringere Diastasemenge genügend Kochsalz vorkommt.

In der zweiten Abhandlung wird bewiesen, daß die überlebende Leber, von Adrenalin erregt, mit einer vermehrten Zuckerproduktion antwortet. Der Mechanismus dieser Adrenalinwirkung ist ein fermentativer. Doch kommt keine Neubildung der Diastase vor, sondern eine Aktivierung des präformiert vorkommenden Erzeugnisses. Diese Aktivierung wird teils — haupteächlich bei Fusca — durch Verschiebung der Säuren-Basenkomponente innerhalb der Zelle verursacht. Man kann dieselbe durch Überführung der Leber in Phosphatlösung nachahmen. Umgekehrt kann man durch Zusatz von äußerst geringen Säuremengen zu der Ringer-Adre-

linlösung die Adrenalinwirkung hemmen, nicht aber die physiologische Zuckerproduktion.

Teils liegt die Ursache — in erster Linie bei Esculenta — in einer von dem Adrenalin bedingten Veränderung der intracellulären Lipoide. Auch diese Wirkung läßt sich durch Narkotisierung der Leber nachahmen.

Hiermit ist die physiologische und pathologische Zuckerbildung der Froschleber prinzipiell erklärt worden, eine Erklärung, die jedoch nur — wie immer — neue Fragen anregt. Doch dürften die gefundenen Tatsachen den Weg zu fortgesetzter Bearbeitung der Fragen gebahnt haben.

Es fragt sich dann zuletzt, inwieweit sich die gegebenen Tatsachen ohne weiteres auf die Verhältnisse der warmblütigen Tiere übertragen lassen. Wenn so nahe verwandte Versuchsobjekte, wie die R. fusca und R. esculenta, schon so ausgesprochene Unterschiede aufweisen, so ist es entschieden besser, sich diesen Fragen gegenüber abwartend zu verhalten. Doch haben auch hier die Ergebnisse beim Frosch den Weg der Experimentalforschung für warmblütige Tiere gebahnt.

Und schließlich ist daran zu erinnern, daß man beim Frosch genau dieselben Formen des experimentellen Diabetes wie bei den Warmblütern zustande bringen kann.

Ebenso wie wir unsere wichtigsten Kenntnisse des Muskels überhaupt den Untersuchungen am Froschmuskel verdanken, ist es auch erlaubt, die Froschleber als Kriterium der Zuckerbildung zu benutzen.

Über die analytische Zusammensetzung der menschlichen Galle.

Von

Ernst v. Czyhlarz, Adolf Fuchs und Otto v. Fürth.

(Eingegangen am 23. Januar 1913.)

I.

Trotz der zentralen Stellung, die der Leber als größtem drüsigen Organe im Stoffwechsel der Wirbeltiere zukommt, und trotz des Interesses, das die Galle als Sekret derselben für sich in Anspruch nahmen darf, sind wir über die Veränderungen der chemischen Zusammensetzung der letzteren unter physiologischen und pathologischen Bedingungen auffallend mangelhaft orientiert. „Das wenige Wissenswerte, das hinsichtlich pathologischer Gallenveränderungen bekannt ist, bedarf nicht vieler Worte. Als Gegenstück zu der reichlichen Farbstoffbildung nach toxischem Blutkörperchenzerfall wäre die pigmentäre Acholie zu betrachten, die bei fettiger Degeneration der Leber, bei Tuberkulose u. dgl. wiederholt bemerkt worden ist[1]). Auf die auffallende Armut der Galle an Gallensäuren bei Amyloidleber hat bereits Hoppe-Seyler aufmerksam gemacht. Unter Umständen kann Blut und Eiweiß in die Galle übertreten. So beobachtete Pilzecker[2]) im Laboratorium Kossels, daß nach Arsenvergiftung reichlich koagulables Eiweiß mit der Galle ausgeschieden werden kann, noch bevor solches im Harne nachweisbar wird. Nach Phosphorvergiftung

---

[1]) Ritter, ferner Robin, Kimura (Klinik F. Müller, München), Arch. f. klin. Med. 79, 275, 1904.

[2]) A. Pilzecker, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 157, 1904.

floß aus der Tiefe der Leber eine dicke, braunrote Flüssigkeit, die zahlreiche rote Blutkörperchen und die „Schatten“ solcher enthielt. Gürber und Hallauer[1]) sahen nach intravenöser Caseineinspritzung bei Kaninchen diese Proteinsubstanz nicht nur in den Harn, sondern auch in die Galle übergehen. Sigmund Lang[2]) machte das Vorkommen von Fibrinogen in der Galle phosphorvergifteter Tiere wahrscheinlich. Bei akuter gelber Leberatrophie wurde gelegentlich das Auftreten von Leucin und Tyrosin in der Galle beobachtet u. dgl.; alles das kann jedoch nur als Stückwerck gelten“[3]).

Ein Überblick über eine Reihe bisher vorliegender analytischer Ergebnisse ist aus beifolgenden Tabellen zu entnehmen, wobei wir, der weitgehenden Unterschiede wegen, Blasen- und Fistelgalle auseinanderhalten.

Analysen menschlicher Blasengalle.

	Frerichs[4])		Gorup-Besanez[5])	Hamarsten[6])		Baginsky und Sommerfeld[7])
	I	II		I	II	
Wasser	86,00	85,92	82,27—90,87	82,97	83,98	89,65
Trockensubstanz	14,00	14,08	3,19—17,73	17,03	16,02	10,35
Gallensäure, bzw. gallensaure Salze	7,22	9,14	5,65—10,79	9,70	8,72	1,63
Fett, bzw. Fettsäuren und Seifen, Phosphatide	0,32	0,92	} 3,09—4,73	{1,53	1,85	1,27
Cholesterin	0,16	0,26		0,98	0,87	0,34
Gallenfarbstoff	} 2,66	2,98	1,45—2,39	4,19	4,43	—
Mucin						0,20
Anorganische Salze	0,65	0,77	0,63—1,08	—	—	0,91

[1]) A. Gürber und B. Hallauer (Physiol. Inst. Würzburg), Zeitschr. f. Biol. 45, 372, 1904.

[2]) S. Lang (Klinik von Friedrich Kraus, Berlin), Zeitschr. f. experm. Pathol. 3, 473, 1906.

[3]) O. v. Fürth, Probleme der physiol. u. pathol. Chem. 1, 301 ff., 1912.

[4]) Frerichs, zitiert nach Gorup-Besanez, Lehrb. d. physiol. Chem. 3. Aufl. 1874, S. 529.

[5]) Gorup-Besanez, l. c.

[6]) Hamarsten, zit. nach J. Wohlgemuth, Handb. d. Biochem. 3 [1], 206, 1910.

[7]) Baginsky und Sommerfeld, zit. nach Hamarsten, Lehrb. d. physiol. Chem. 6. Aufl. 1907, S. 328.

Analysen menschlicher Fistelgalle.

	Jacobsen und Westphalen[1]	Yeo und Herronn[2]	Copeman und Winston[3]	Robson und Fairley[4]	Paton und Balfour[5]	Hamarsten[6]	v. Zeynek[7]	Bonnani[8]	Brand[9]
Wasser	97,76	98,72	98,58	98,20	98,48	96,47—97,48	96,97	96,46	98,22—96,86
Trockensubstanz	2,24	1,28	1,42	1,80	1,52	2,52—3,52	3,07	3,54	1,78—3,14
Gallensäure, bzw. gallensaure Salze	1,02	0,22	0,63	0,76	0,35	0,90—1,82	1,83	1,83	0,43—1,34
Fett, bzw. Fettsäuren u. Seif., Phosphatide .	0,15	} 0,04	0,10	0,15	0,03	0,14—0,30	} 0,31	0,30	0,13—0,44
Cholesterin . .	0,06			0,05	0,05	0,06—0,16		0,16	0,07—0,10
Gallenfarbstoff . Mucin	} 0,23	0,15	—	0,17	0,46	0,42—0,53	0,20	0,50	0,26—0,28
Anorganische Salze	0,84	0,84	—	0,76	0,70	0,72—0,83	0,94	0,71	0,78

Ein Blick auf die vorstehenden Tabellen belehrt uns darüber, wie sehr die Angaben über die analytische Zusammensetzung selbst der normalen menschlichen Galle differieren, und daß systematische Untersuchungen über den Einfluß pathologischer Faktoren auf die quantitative Zusammensetzung des Lebersekretes bisher überhaupt nicht vorliegen.

Die wesentliche Ursache dieser Wissenslücke dürfte in dem Umstande gelegen sein, daß es bisher an Methoden gefehlt hat, um eine systematische analytische Untersuchung, welche die wichtigsten Gallenbestandteile betrifft, mit jenen relativ kleinen Sekretmengen ausführen zu können, die der Inhalt einer einzigen menschlichen Gallenblase umfaßt, und daß man daher bisher darauf verzichten mußte, den anatomisch-histo-

---

[1]) Jacobsen und Westphalen, zit. nach J. Brand, Arch. f. d. ges. Physiol. 90, 496, 1902.

[2]) Yeo und Herronn, ebenda.

[3]) Copeman und Winston, ebenda.

[4]) Robson und Fairley, ebenda.

[5]) Paton und Balfour, ebenda,

[6]) Hamarsten, Lehrb. d. physiol. Chem. 6. Aufl. 1907, S. 328.

[7]) v. Zeynek, Wiener klin. Wochenschr. 1899, Nr. 21.

[8]) Bonnani, Archivio di Farmocologia sperimentale 1, 511, 1902. Zit. nach Biochem. Centralbl. 1, Nr. 384, 1903.

[9]) Brand, l. c.

logischen, am Seziertisch erhobenen Leberbefund durch die chemische Untersuchung des Gallenblaseninhaltes zu ergänzen.

Es erschien uns daher als die erste und wichtigste Aufgabe unserer Untersuchung, die Methodik der Gallenanalyse derart zu modifizieren, daß die Analyse mit dem Inhalte einer einzigen menschlichen Gallenblase ohne übergroßen Zeitverlust derart durchgeführt werden kann, daß immerhin eine Orientierung über die Relation der von physiologischen und pathologischen Gesichtspunkten aus in erster Linie in Betracht kommenden Bestandteile ermöglicht ist. Wir beschränken uns in dieser Mitteilung darauf, die Ergebnisse der Analysen normaler menschlicher Galle, eines Falles von Gallenfistel und einiger willkürlich gewählter pathologischer Stichproben wiederzugeben und beabsichtigen, eine Reihe physiologischer und pathologischer Fragen an der Hand dieser Methode weiterhin zu bearbeiten.

II. Methodisches.

Indem wir die zahlreichen Versuche, die uns zur Ausarbeitung unseres Analysenganges geführt haben, übergehen, beschränken wir uns darauf, jenes Verfahren wiederzugeben, das sich uns schließlich als gangbar erwiesen hat.

Die für die Analyse erforderliche Gallenmenge von zirka 30 ccm wird in drei Partien gesondert. Portion A (3 ccm) dient der Bestimmung der Trockensubstanz, Portion B (5 ccm Galle) der Bestimmung des Gallenfarbstoffes; in der Hauptfraktion werden Gallensäuren, Mucin, fettige Substanzen und Cholesterin gesondert ermittelt.

1. Die Trockensubstanz wurde in üblicher Weise durch Trocknung einer genau abgemessenen Gallenmenge (3 ccm) zur Gewichtskonstanz bei 100° ermittelt.

2. Die Schätzung des Gallenfarbstoffgehaltes wurde, nachdem sich das für den Harn angegebene Verfahren von Bouma[1]) für unsere Zwecke als nicht anwendbar erwiesen hatte und nachdem verschiedene andere colorimetrische Bestimmungsversuche fehlgeschlagen waren, schließlich in folgender Weise durchgeführt.

5 ccm Galle wurden mit 5 ccm 10%iger Natronlauge

[1]) Bouma, Deutsche med. Wochenschr. 1904, S. 881.

$^1/_2$ Stunde lang unter Rückflußkühlung am Wasserbade erwärmt. Dabei erfolgt Umwandlung des vorhandenen Bilirubins in Biliverdin. Hierauf werden 30 ccm 95⁰/₀igen Alkohols zu der heißen Flüssigkeit hinzugefügt, der ausfallende Niederschlag wird abfiltriert und die etwas getrübte Flüssigkeit tropfenweise mit verdünnter Salzsäure schwach angesäuert, worauf Klärung erfolgt. Nunmehr wird die intensiv smaragdgrün gefärbte Flüssigkeit auf colorimetrischem Wege mit Hilfe eines Dubosq-Colorimeters (von Pellin in Paris) mit einer 0,02 $^0/_0$igen alkoholischen Biliverdinlösung (Biliverdin von Schuchardt) verglichen.

3. Die Hauptfraktion (20 ccm Galle) wurde in folgender Weise verarbeitet:

Die Flüssigkeit wird in einem kleinen Scheidetrichter 3mal ausgeäthert, wobei eine Emulsionsbildung durch Zufügen von ein wenig Alkohol hintangehalten werden kann. Nach glatter Scheidung, (wobei unter Umständen mehrstündiges Zuwarten erforderlich ist), wird die ätherische lipoidhaltige Fraktion („C") abgetrennt und die ausgeätherte Galle („D") zur Bestimmung des Mucins und der Gallensäuren verwendet.

a) Die ätherische Lipoidfraktion[1]) wurde auf einem elektrisch geheizten Rechaud in einem Schälchen vom Äther befreit und mit 20 ccm einer Alkoholatlösung (durch Eintragen von 5 g metallischen Natriums in 100 ccm 95 $^0/_0$igen Alkohols jedesmal frisch bereitet) auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wurde nunmehr in 20 ccm Wasser gelöst und behufs Abtrennung des Cholesterins (E) von den Seifen (F) im Scheidetrichter ausgeäthert.

b) Cholesterinfraktion („E"): Der Äther wurde in einem Schälchen auf dem elektrischen Rechaud vertrieben, der Rückstand in 10 ccm reinsten Chloroforms aufgenommen. Bleibt ein Rückstand in Chloroform ungelöst, so wird derselbe in einigen Tropfen Wasser aufgenommen und die Lösung mit der Seifenfraktion F vereinigt.

Die Bestimmung des Cholesterins in der Chloroformlösung wurde nunmehr auf colorimetrischem Wege nach

[1]) Dieselbe enthält Cholesterin, Neutralfett und Phosphatide; aber natürlich nicht präformierte Seifen, auf deren Bestimmung, um das Verfahren nicht in, im Verhältnis zum Endeffekte unverhältnismäßiger, Weise zu komplizieren, verzichtet wurde.

E. Schulze[1]) und Grigaut[2]) durchgeführt. Zu diesem Zwecke wurde die genau 10 ccm umfassende Chloroformlösung mit 2 ccm Essigsäureanhydrid und 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt, umgeschüttelt und die Flüssigkeit einige Minuten stehen gelassen. Man erhält so eine schön sattgrün gefärbte Flüssigkeit, die zum colorimetrischem Vergleiche mit einer ebenso behandelten Cholesterinstandardlösung vortrefflich geeignet ist. Diese Standardflüssigkeit wird durch Auflösen von 0,05 g Cholesterin in 100 ccm reinsten Chloroforms bereitet; davon werden 10 ccm mit 2 ccm Essigsäureanhydrid und 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt. In bezug auf das angewandte Essigsäureanhydrid ist wohl zu beachten, daß das gewöhnliche käufliche Präparat, nicht aber reinstes Essigsäureanhydrid von Kahlbaum, zu verwenden ist, da offenbar die Gegenwart irgend einer noch zu ermittelnden Beimengung für den Eintritt der Reaktion unerläßlich ist. Handelt es sich um eine besonders cholesterinreiche Galle, so ist die in der beschriebenen Weise erhaltene Chloroformlösung (10 ccm Chloroform entsprechen 20 ccm der Ausgangsgalle) für den colorimetrischen Vergleich allzu konzentriert. Man hilft sich dann in der Weise, daß man die Chloroformlösung auf ein Mehrfaches mit reinstem Chloroform verdünnt.

c) Bestimmung der hohen Fettsäuren.

Die wässerige Seifenlösung (F), die durch Ausäthern von Cholesterin befreit worden war, wurde mit Schwefelsäure angesäuert und nach Erkalten im Schütteltrichter mit Äther zweimal ausgeschüttelt, die Ätherschicht in ein gewogenes Schälchen übertragen, auf dem elektrischen Rechaud vom Äther befreit, der Rückstand bei 100° getrocknet und gewogen.

d) Bestimmung des Mucins.

Die nach Ausätherung der lipoidhaltigen Fraktion C erhaltene Hauptfraktion D wurde mit 80 ccm 95%igem Alkohol versetzt, wobei das Mucin ausfiel. Dasselbe wurde auf einen gehärteten Filter gesammelt, mit Alkohol nachgewaschen (Filtrat G) und je nach der Menge das Mucinquantum durch Kjeldahlbestimmung ermittelt (wobei der Stickstoffgehalt des Gallen-

---

[1]) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 503, 1890.
[2]) A. Grigaut, Compt. rend. Soc. Biol. 68, 827, 1910.

mucins nach Pajkull[1]) mit 16,14 % angenommen wurde). Hat man es gelegentlich bei Verarbeitung einer größeren Gallenmenge mit größeren Mucinquanten zu tun, so kann man den zähen Niederschlag noch feucht vom gehärteten Filter abheben und nach Trocknung bei 100° direkt wägen.

e) Bestimmung der Cholsäure.

Zur Bestimmung der Cholsäure gingen wir unter Verwertung der von Goodmann[2]) in Hofmeisters Laboratorium gewonnenen Erfahrungen folgendermaßen vor:

Nach Beseitigung des Mucins durch Alkoholfällung wurde das Filtrat G durch Eindampfen auf dem Wasserbade von Alkohol befreit, der Rückstand in 20 ccm Wasser aufgenommen, in eine geräumige Druckflasche unter Nachspülen mit Wasser übertragen, die Flüssigkeit nunmehr mit der $2\frac{1}{2}$fachen Menge 60 %iger Kalilauge versetzt und die verschlossene Druckflasche 48 Stunden lang im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Inhalt der Druckflasche in ein Becherglas übergespült, mit verdünnter Natronlauge nachgespült, auf das doppelte Volumen mit Wasser verdünnt, konzentrierte Salzsäure bis zur stark sauren Reaktion hinzugefügt. Nach eintägigem Stehen wird der Cholsäureniederschlag auf einem Filter gesammelt, sorgfältig mit Wasser gewaschen, sodann auf dem Filter mit heißem 95 %igem Alkohol gelöst, die Lösung in einem Kölbchen auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft, der Rückstand nunmehr in einer kleinen Menge absoluten Alkohols gelöst (wobei beigemengte anorganische Salze zurückbleiben), die Lösung durch ein kleines Filterchen in ein kleines breites Wägeglas hineinfiltriert, der Alkohol auf dem Wasserbade entfernt, der Rückstand über Nacht bei 100° getrocknet und gewogen.

III. Analysen menschlicher Galle.

A. Normale Blasengalle.

Die Untersuchung normaler menschlicher Blasengalle wurde uns durch das freundliche Entgegenkommen des Herrn Hofrates Prof. Dr. Alexander Kolisko ermöglicht, der uns Material

[1]) Pajkull, Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**, 208, 1888.
[2]) E. H. Goodmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **9**, 91, 1907.

aus dem ihm unterstehenden gerichtlich-medizinischen Institute in liebenswürdigster Weise überlassen hat. Die zwei Mischgallen, deren Analysen im folgenden mitgeteilt sind, rühren durchwegs von Individuen her, die ohne vorangegangene Krankheit eines unnatürlichen Todes gestorben sind.

Mischgalle I.

Wasser	92,95
Trockensubstanz	7,05
Gallensäure bzw. gallensaure Salze	2,93
Hohe Fettsäuren	0,39
Cholesterin	0,25
Gallenfarbstoff	0,06
Mucin	1,45

Unter der rechnerischen Annahme, als ob die Fettsäuren als Tristearin vorhanden gewesen wären, die Cholsäure dagegen als Gemisch gleicher Teile glyko- und taurocholsauren Natrons, sowie unter Einsetzung des approximativen Wertes von 0,85 % für den Gehalt an anorganischen Salzen ergibt sich die Analysenbilanz in diesem Falle wie folgt:

Wasser	92,95
Trockensubstanz	7,05
Gallensaure Salze	3,68
Fett	0,43
Cholesterin	0,25
Gallenfarbstoff	0,06
Mucin	1,45
Anorganische Salze	0,85
Rest	0,33
	7,05

Mischgalle II.

			Mittel
Wasser	—	—	90,57
Trockensubstanz	9,41	9,46	9,43
Gallensäuren	3,72	—	3,72
Hohe Fettsäuren	0,55	0,45	0,50
Cholesterin	0,70	0,62	0,66
Gallenfarbstoff	0,16	0,16	0,16
Mucin	1,64	—	1,64

Unter den oben erwähnten rechnerischen Annahmen ergibt sich die Bilanz:

Wasser	90,57 }
Trockensubstanz	9,43 }
Gallensäure bzw. gallensaure Salze	4,67
Fett	0,56
Cholesterin	0,66
Gallenfarbstoff	0,16
Mucin	1,64
Anorganische Salze	0,85
	8,54

B. Menschliche Fistelgalle.

Durch die Freundlichkeit des Herrn Hofrates Prof. Hochenegg, Vorstand der II. Wiener Universitätsklinik für Chirurgie, war es uns ermöglicht, die Fistelgalle einer wegen Cholelithiasis operierten Patientin zu untersuchen. Die Resultate sind in der nachfolgenden Tabelle mitgeteilt. Die Galle wurde an 7 aufeinanderfolgenden Tagen aufgefangen und analysiert.

Um festzustellen, ob das Cholesterin der Nahrung in die Galle überzugehen vermag, erhielt die Patientin am 4. Tage statt der üblichen Spitalkost 3 ganze Portionen „Hirn mit Ei". Es scheint uns nun im hohen Maße bemerkenswert, daß trotz der gewaltigen Cholesterinmengen, mit denen der Intestinaltrakt der Patientin überschwemmt worden war, von einer Zunahme des Cholesteringehaltes der Galle nichts zu bemerken ist. Dagegen fiel es uns auf, daß von dem Zeitpunkte der Cholesterinfütterung angefangen die bis dahin allerdings ganz abnorm kleinen Werte für die Gallensäuren eine Vervielfachung erfahren haben. Mit Rücksicht auf die Möglichkeit eines chemischen Zusammenhanges zwischen Cholsäure und Cholesterin[1]) beabsichtigen wir, diese Beobachtung zum Ausgangspunkte weiterer Untersuchungen zu machen.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
Wasser	98,44	98,39	98,45	97,87	97,81	97,81	97,08
Trockensubstanz . .	1,56	1,61	1,55	2,13	2,19	2,19	2,92
Gallensäuren	0,07	0,07	0,05	0,28	0,24	0,35	0,55
Hohe Fettsäuren . .	0,23	0,98	0,10	0,19	0,19	0,07	0,14
Cholesterin	0,02	0,09	0,04	0,15	0,02	0,03	0,03
Gallenfarbstoff . . .	0,05	0,06	0,13	0,04	0,01	0,02	0,04
Mucin	quantitativ nicht bestimmbar						

[1]) Vgl. O. v. Fürth, Probleme der physiol. u. pathol. Chem. 1, 329, 1912.

III. Pathologische menschliche Gallen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Vitium cordis	Carcinoma hepatis	Pneumonia crouposa	Carcinoma ventriculi	Erysipelas faciei	Nephritis	Sarcoma pelvis	Tbc.	Nephritis	Carcinoma ventriculi
	S. P. 319	S. P. 322	S. P. 324	S. P. 337	S. P. 346	S. P. 359	S. P. 363	S. P. 371	S. P. 431	S. P. 451
Wasser	93,70	95,92	—	85,70	95,20	89,82	93,74	93,54	95,74	88,88
Trockensubstanz . .	6,30	4,08	—	14,30	4,84	10,18	6,26	6,46	4,26	11,12
Gallensäuren . . .	0,96	0,57	—	—	0,50	4,02	1,14	—	1,21	2,11
Hohe Fettsäuren . .	0,32	0,69	0,56	0,32	1,09	0,68	0,38	0,60	1,41	1,36
Cholesterin	0,75	—	—	0,45	0,45	0,50	0,30	—	0,20	1,04
Gallenfarbstoff . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	0,10	—
Mucin	1,75	0,70	1,79	5,25	—	3,26	3,44	1,92	2,15	—

Wir möchten auf die lückenhaften Analysen der letzten Tabelle, die sich auf pathologisch-anatomisches Material beziehen, das wir der Liebenswürdigkeit des damaligen Prosektors des k. k. Kaiser-Franz-Josef-Spitales in Wien, Herrn Prof. Heinrich Albrecht, verdanken, um so weniger Wert legen, als diese im Beginne unserer Untersuchung ausgeführt worden sind und wir unsere Methodik vielfach erst an der Hand derselben verbessert haben. So haben wir z. B. alle unsere älteren Gallenfarbstoffanalysen wegen methodischer Mängel gestrichen. Eines jedoch ergibt sich bereits auch aus diesen vorläufigen Stichproben, daß die Relation der wichtigsten Gallenbestandteile eine außerordentlich variable ist, und daß sich dieselbe gänzlich unabhängig vom Eindickungsgrade der Galle innerhalb sehr weiter Grenzen verschieben kann.

Wir glauben, daß nunmehr nach Ausarbeitung einer brauchbaren Methodik es möglich sein dürfte, durch zweckentsprechende Kombination des Tierexperimentes mit einer Auslese pathologisch-anatomischen Materiales einer Reihe bisher ungelöster Stoffwechselfragen näherzutreten.

Über die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf das Hippomelanin.

Von

Jenny Adler-Herzmark.

(Ausgeführt unter der Leitung des a. ö. Prof. Dr. Otto v. Fürth im Physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 23. Januar 1913.)

Die Vorgänge der Melaninbildung im tierischen Organismus haben im Verlaufe der letzten Jahre insofern eine Klärung erfahren, als man dahin gelangt ist, die Prozesse physiologischer und pathologischer Melaninbildung, der Auffassung O. v. Fürths entsprechend, in zwei Phasen aufzulösen und anzunehmen, daß unter der Mitwirkung eiweißspaltender Enzyme zunächst eine Abspaltung cyclischer Komplexe aus dem Proteinmoleküle erfolgt, worauf sich dann durch die Wirkung oxydativer Fermente die Überführung dieser cyclischen Komplexe in Melanin vollzieht.

Diese, durch zahlreiche Untersuchungen[1]) gestützte Annahme, derzufolge die cyclischen Komplexe des Eiweißmoleküls im wesentlichen das Material für die Melaninbildung liefern, schien nun durch die Arbeiten von Rona und Riesser[2]) in Frage gestellt zu werden. Die Genannten fanden nämlich, daß es durch Oxydation von Hippomelanin mit Wasserstoffsuperoxyd leicht gelingt, eine klare Lösung zu erhalten, wobei viel Oxalsäure auftritt und mehr als die Hälfte des vorhandenen Stickstoffes in Form von Ammoniak abgespalten wird. Ein

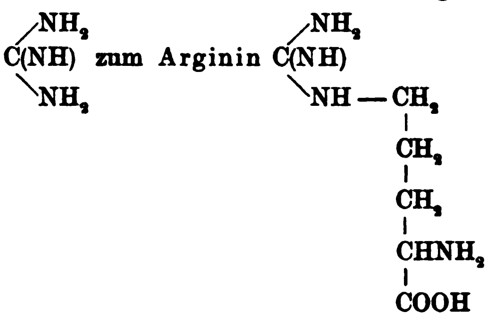
---

[1]) Literatur über Melanine und ferment. Melaninbildung: O. v. Fürth, Centralbl. f. allgem. Pathol. 15, 617 bis 641, 1904; Handb. d. Biochemie 1, 744 bis 749, 1907; Probleme d. physiol. u. pathol. Chemie 1, 522 bis 539, 1912.

[2]) P. Rona und O. Riesser, Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 143, 1908; 61, 12, 1909.

nicht unbeträchtlicher Stickstoffanteil tritt jedoch dabei nach Rona und Riesser als Guanidin auf, das in Form des Pikrats sowie der Platinverbindung dieser Base isoliert worden ist.

Es ist nun einleuchtend, daß, falls wirklich ein erheblicher Anteil des Melaninstickstoffes bei der oxydativen Spaltung des Melanins in Form von Guanidin auftritt, die Annahme, daß das Melanin ausschließlich der Oxydation cyclischer Komplexe des Eiweißmoleküls seine Entstehung verdankt, unhaltbar geworden ist, und es wäre, den nahen Beziehungen des Guanidins



entsprechend, zumindest sehr naheliegend, diesem letzteren einen wichtigen Anteil an der Entstehung des Melaninmoleküls einzuräumen. Ich bin nun daran gegangen, durch systematische Untersuchungen festzustellen, ein wie großer Bruchteil des Melaninstickstoffes bei dem Vorgang von Rona und Riesser in Form von Guanidin erhältlich ist.

I.

Angesichts der großen Schwierigkeit, Melanine von kolloidalen Beimengungen, insbesondere von Eiweißkörpern und von Eiweißderivaten vollständig zu befreien, habe ich auf die Darstellung des Melaninmaterials besondere Sorgfalt verwendet.

Als Ausgangsmaterial dienten mir melanotische Lymphdrüsen vom Pferde. Dieselben wurden, dem Vorgange O. v. Fürths und Jerusalems entsprechend[1]), 4 Stunden mit rauchender HCl zerkocht, wobei die Eiweißkörper einer vollständigen Hydrolyse anheimfallen. Der Melaninrückstand wurde auf gehärtetem Nutschfilter gesammelt und zweimal mit Wasser, zweimal mit 95%igem Alkohol, einmal mit Äther ausgekocht.

20 g des so in Form eines feinen trockenen Pulvers erhaltenen Melanins wurden nun, dem Vorgang von Rona und Riesser ent-

[1]) O. v. Fürth und E. Jerusalem, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 131, 1907.

sprechend, durch 24 Stunden auf dem Wasserbade mit 3%igem Wasserstoffsuperoxyd unter Rückflußkühlung erhitzt. Dabei ging tatsächlich die Hauptmenge des Präparates in Lösung. Es blieb nur, nach Abfiltrieren der braungelben Flüssigkeit, eine Substanzmenge von etwa 2 g ungelöst zurück.

Die Gesamtstickstoffbestimmung nach Kjeldahl in einem aliquoten Teile der Flüssigkeit ergab, daß der Stickstoffgehalt derselben 6,11 bzw. 6,54% vom Gewicht des gelösten Pigmentes betrug (wobei der hohe Aschengehalt des Präparates, der sich auf 16,5% belief, in Rechnung gezogen worden war).

Etwa $^2/_3$ dieser Stickstoffmenge (4,81 bzw. 4,43%) findet sich nun in der Flüssigkeit in Form von Ammoniak.

Als ich nun dieses Ammoniak durch Destillation mit Magnesia entfernt hatte, erwartete ich, im Destillationsrückstande erhebliche Mengen basischen Stickstoffs bzw. Guanidins nachweisen zu können, war daher überrascht zu finden, daß Phosphorwolframsäure überhaupt keinen Niederschlag gab, und daß bei der Guanidinbestimmung nach Pommerenig[1]) eine Pikrinsäurefällung gänzlich ausblieb.

Die Oxydationsflüssigkeit enthielt keine Oxalsäure, auch nahm Äther weder bei saurer noch bei alkalischer Reaktion etwas daraus auf. Sie erwies sich weder durch Kupfersulfat noch durch Sublimat fällbar; dagegen gab Quecksilberacetat, sowie auch Mercurinitratlösung eine reichliche, in Salzsäure lösliche Fällung.

Es stellte sich heraus, daß Fällung mit gesättigtem Quecksilberacetat aus der mit Natronlauge neutralisierten Flüssigkeit eine Stickstoffmenge entsprechend 3,49% des Ausgangsmelanins abzutrennen vermochte. Offenbar ist also der der Umwandlung in Ammoniak entgangene Stickstoff im wesentlichen in diesem Niederschlag enthalten.

Durch Zersetzung des Quecksilberniederschlages mit Schwefelwasserstoff wurde festgestellt, daß es sich um eine saure, durch Basenfällungsmittel nicht fällbare Substanz handelt. Ein Hinweis auf eine cyclische Natur derselben findet sich in dem Umstande, daß dieselbe nach Kochen mit Salpetersäure auf Zusatz von Natronlauge eine rötliche Färbung gibt und mit diazotierter Sulfanilsäure eine rötlichbraune Färbung annimmt.

Da wir bei den vorerwähnten Versuchen das Ammoniak durch direktes Kochen mit Magnesia ausgetrieben hatten, ergab sich uns der Einwand, ob nicht etwa bei der Hydrolyse

---

[1]) E. Pommerenig, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**, 54, 1902.

des Melanins entstandenes Guanidin beim Kochen mit Magnesia eine Zersetzung erfahren haben könnte. Dieser Einwand erwies sich insofern als berechtigt, als wir uns überzeugten, daß reines Guanidincarbonat (Kahlbaum) beim Kochen mit Magnesia tatsächlich sehr reichliche Mengen Ammoniak abgibt.

Wir haben dementsprechend einen weiteren Versuch in folgender Weise ausgeführt:

20 g gereinigten Melanins wurden in Wasserstoffsuperoxyd in vorbeschriebener Weise vollständig in Lösung gebracht. In einem aliquoten Teile dieser Lösung wurde die Melaninsäure durch Ansäuern mit Salzsäure ausgefällt, filtriert und das Filtrat durch Destillation mit Magnesia im Vakuum bei ca. 50° (ähnlicherweise wie dies Rona und Riesser getan hatten) von Ammoniak vollständig befreit. In der nunmehr von Melaninsäure und Ammoniak befreiten Flüssigkeit wurde der Gesamtstickstoffgehalt bestimmt. Es ergab sich, daß, einer Menge von 2 g Melanin entsprechend, die 0,209 g N enthalten hatten, nach Beseitigung der durch die Wasserstoffsuperoxydeinwirkung entstandenen Melaninsäure und des Ammoniaks, nur mehr das geringe Quantum von 0,014 g N (entsprechend 7 % des Melaninstickstoffes) übrig geblieben war.

Daß dieses geringe Stickstoffquantum aber weder auf Rechnung von Guanidin noch irgend einer anderen basischen Substanz kam, ergibt sich mit Sicherheit aus dem Umstande, daß Phosphorwolframsäure + HCl in dieser Fraktion weder direkt noch nach langdauerndem Stehen irgendeine Fällung erzeugt.

II.

Der Versuch, den oxydativen Abbau des Melanins durch Zusatz von Eisenchlorür bzw. Zinkstaub zur salzsauren Wasserstoffsuperoxydlösung günstig zu beeinflussen, scheiterte an der Abscheidung schwerlöslicher amorpher Produkte.

Ein weiterer Versuch wurde in der Richtung ausgeführt, daß wir das Melanin vor der Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd in die leichter lösliche Melaninsäure überführten. Zu diesem Zwecke wurden 50 g durch Vorbehandlung mit konzentrierter Salzsäure gewonnenen Rohmelanins 3 Stunden lang mit der 6fachen Menge Ätzkali bei 250° geschmolzen und die Melaninsäure aus der wässerigen Lösung der Schmelze durch Ansäuern gefällt. Wider Erwarten erwies sich dieses, durch neuerliches Lösen in Alkali und Fällen mit Säure gereinigte, Produkt dem Wasserstoffsuperoxyd gegenüber jedoch noch widerstandsfähiger als das native Melanin, insofern selbst nach tagelangem Erhitzen mit oft erneuerten Wasserstoffsuperoxydmengen ein erheblicher Anteil des Präparates ungelöst blieb. Der gelöste Anteil erwies sich auch in diesem Falle mit Quecksilberacetat fällbar.

Schließlich führte ich den Versuch aus, das Melanin durch Vorbehandlung mit Ozon gewissermaßen „aufzuschließen". Mit Hilfe eines im Institute zur Verfügung stehenden Ozonapparates, der die Bereitung hochwertiger Ozon-Sauerstoffgemenge gestattet, wurde eine Suspension von Melanin in Chloroform mehrere Stunden lang durch Einleiten von Sauerstoff, der einen Ozongehalt von 5 bis 6% enthielt, behandelt. Nach Abdampfen des Chloroforms erwies sich ein Teil des Rückstandes wasserlöslich. Es wurde so eine rotbraune, stark saure Flüssigkeit erhalten, die wiederum reichliche Fällung mit Quecksilberacetat gab, jedoch auch in diesem Falle weder eine ätherlösliche, noch aber eine Fehlingsche Lösung oder ammoniakalische Silberlösung reduzierende, noch endlich eine sich mit Eisenchlorid färbende Substanz enthielt, derart, daß nicht der mindeste Anhaltspunkt für die Bildung einer hydroxylierten cyclischen Substanz von einfacherer Konstitution vorlag.

III.

Wie aus den vorstehend mitgeteilten Versuchen hervorgeht, hat sich die Hoffnung, durch den Abbau des Melanins mit Wasserstoffsuperoxyd zu wohlcharakterisierten Produkten zu gelangen, nicht erfüllt.

Die Frage, von welcher Natur denn eigentlich das Hauptprodukt sei, das sich nach Lösung des Melanins mit Wasserstoffsuperoxyd in der Reaktionsflüssigkeit findet, wurde nun durch die Beobachtung beantwortet, daß sich aus der braungelben Lösung auf Säurezusatz ein dunkelgefärbtes, amorphes Produkt abscheidet, das dem Melanin offenbar noch nahesteht und mit der durch Kalischmelze aus Melanin hervorgehenden Melaninsäure weitgehende Ähnlichkeit aufweist. Dieses saure Produkt wird in der Flüssigkeit durch das bei der Melaninoxydation reichlich auftretende Ammoniak offenbar als Ammoniumsalz in Lösung gehalten, derart, daß es sich ungelöst abscheidet, sobald man ihm durch eine Mineralsäure sein Lösungsmittel entzieht.

Ich habe nun Melanin mit besonderer Sorgfalt rein dargestellt, sodann mit Wasserstoffsuperoxyd oxydiert und die analytische Zusammensetzung der so erhaltenen „Melaninsäure" mit dem Ausgangsmateriale verglichen.

Zu diesem Zwecke wurde durch Vorbehandlung mit Salzsäure und Alkohol dargestelltes Rohmelanin 1 Stunde lang mit 10%iger Natronlauge erhitzt, filtriert, der ungelöste Rückstand sodann abermals gründlich mit Alkohol, Wasser, wiederum mit Alkohol, endlich mit Äther extrahiert und das Melanin so schließlich in Form eines homogenen, staub-

feinen Pulvers erhalten. Dieses zeigte auffallenderweise noch immer einen hohen Aschegehalt (16,5 %), der wohl schwerlich in diesem Falle durch eine adhärierende Verunreinigung mit anorganischen Substanzen erklärt werden kann, vielmehr auf einer organischen Bindung von Alkalimetall beruhen dürfte.

Die aschenfrei berechnete Analyse dieses Melanins ergab:

C	49,10	49,52	Mittel	49,31 %
H	3,10	2,95	„	3,03 %
N	10,89	10,24	„	10,56 %
S (nach Carius)		1,17	„	1,17 %
O			„	35,93 %
				100,00 %

20 g dieses Hippomelaninpräparates wurden durch tagelanges Erhitzen mit portionenweise zugesetztem (1000 ccm) 3 %igem Wasserstoffsuperoxyd völlig in Lösung gebracht. Die Lösung wurde auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, um Wasserstoffsuperoxyd zu entfernen. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, mit Salzsäure versetzt, wobei sich die Melaninsäure in Form braunschwarzer Flocken ausschied; dann wurde der Niederschlag nach sorgfältigem Waschen getrocknet. Ein zweites Präparat wird in gleicher Weise dargestellt, mit dem Unterschiede jedoch, daß das Präparat noch einmal in Alkali gelöst und mit Säure gefällt wurde.

Die Analysen ergaben, aschenfrei berechnet (Aschengehalt 3,65 bzw. 2,89 %):

C	58,50	58,55	Mittel: 58,52 %	57,65	57,21	Mittel:	57,43 %
H	1,63	1,83	„ 1,73 %	1,98	1,94	„	1,96 %
N	10,11	10,21	„ 10,16 %	10,78	10,18	„	10,48 %
S	—	—	—	0,32		„	0,32 %
O	—	—	—			„	29,81 %
							100,00

Zum Vergleiche führe ich die Analysenzahlen eines Melaninsäurepräparates an, das v. Fürth und Jerusalem durch kombinierte Einwirkung von Kalischmelze und Chromsäureoxydation seinerzeit gewonnen hatten[1]):

C	58,04
H	2,64
N	8,79
S	1,06
O	29,47
	100,00

[1]) O. v. Fürth und E. Jerusalem, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 145, 1907.

Die Übereinstimmung ist eine ausreichende, um auch das durch Wasserstoffsuperoxyd erhaltene Produkt als Melaninsäure ansprechen zu dürfen.

Schließlich möchte ich noch in bezug auf den Schwefelgehalt unserer Melaninsäure eine Bemerkung einfügen. Da zwar manche Melanine sehr schwefelreich (bis 10 %), andere aber wiederum gänzlich schwefelfrei gefunden worden sind, da ferner Zdarek und v. Zeynek[1]) bei fraktionierter Extraktion eines Melaninpräparates mit Ammoniak eine fortschreitende Abnahme des Schwefelgehaltes festgestellt hatten, da endlich v. Fürth und Jerusalem durch eingreifende Behandlung des Hippomelanins durch schmelzendes Kali und Oxydationsmittel den Schwefelgehalt auf einen Bruchteil des ursprünglichen Wertes herabzudrücken vermochten, scheint es mir nicht gerechtfertigt zu sein, wenn der Schwefel als ein wesentlicher Bestandteil des Melaninmoleküls aufgefaßt wird.

Zusammenfassung.

Bei der Lösung des Hippomelanins in Wasserstoffsuperoxyd nach dem Vorgange von Rona und Riesser wird ein großer Teil des Hippomelanins so weitgehend zerstört, daß etwa zwei Drittel des darin enthaltenen Stickstoffes in Form von Ammoniak auftreten. Der unzerstört gebliebene Anteil des Melanins findet sich im wesentlichen in Form eines, dem Melanin offenbar noch nahestehenden, Produktes vom Charakter einer Melaninsäure, die an sich in Wasser schwer löslich ist, durch das bei der Reaktion auftretende Ammoniak jedoch in Form eines Ammoniumsalzes in Lösung gehalten wird, und aus dieser durch Säurezusatz ebenso wie auch durch Quecksilberacetat abgeschieden werden kann.

Guanidin oder andere basische Produkte organischer Natur konnten unter den oxydativen Abbauprodukten des ausreichend gereinigten Hippomelanins nicht nachgewiesen werden, und es liegt für die Annahme, daß außer den im Eiweißmoleküle enthaltenen cyclischen Komplexen auch etwa basische Produkte aliphatischer Natur bei der Entstehung der Melanine beteiligt seien, vorderhand kein Anhaltspunkt vor.

[1]) Zdarek und v. Zeynek, Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 493, 1902.

Über das Wesen der Hämoglobinzerstörung bei der Organautolyse.

Von

Soichiro Miura.

(Ausgeführt unter der Leitung des a. ö. Prof. Dr. Otto v. Fürth im Physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 23. Januar 1913.)

Das Problem der Hämoglobinzerstörung im Organismus ist, trotzdem dasselbe Gegenstand außerordentlich zahlreicher Untersuchungen gewesen ist und obschon wir darüber immerhin besser orientiert sind, als über den Aufbau des Blutfarbstoffes im Organismus, auch heute noch als ein offenes zu betrachten. Wir wissen zwar, daß der Gallenfarbstoff als das wichtigste physiologische Abbauprodukt des Hämoglobins anzusehen ist und daß die Bilirubinbildung sich vorwiegend in der Leber vollzieht; doch ist uns der genauere Chemismus dieses Vorganges ebenso unbekannt, wie die Rolle, die den verschiedenen Organen bei den Prozessen der physiologischen und pathologischen Hämoglobinzerstörung zufällt.

Ein neuer Weg zum Studium dieser physiologisch so bedeutungsvollen Vorgänge schien sich nun zu eröffnen, als Heß und Saxl[1]) die Beobachtung mitteilten, daß die normale Leber das in ihr enthaltene Hämoglobin auch durch einen postmortalen Vorgang auf autolytischem Wege zu zerstören vermag, während dieser Zerstörungsvorgang in einer mit Phosphor, Arsen, Chloroform, Diphtherietoxin u. dgl. vergifteten Leber erheblich verzögert erscheint. In einer weiteren Publikation[2]) berichteten die genannten Autoren, daß jene Gifte, die die Hämoglobinzerstörung bei der Autolyse hemmen, auch befähigt sind, intravital, Menschen und Tieren einverleibt, eine Erhöhung des

[1]) Diese Zeitschr. **19**, 274, 1909.

[2]) Arch. f. klin. Med. **104**, 1, 1911.

Erythrocytengehaltes als Ausdruck einer Herabminderung der hämoglobinzerstörenden Leberfunktion zu bewirken.

Da die vorliegenden Beobachtungen also einen unmittelbaren Hinweis auf die physiologische Bedeutung der autolytischen Hämoglobinzerstörung zu enthalten schienen, bin ich, auf Aufforderung von Prof. v. Fürth, daran gegangen, Vorgänge dieser Art einerseits durch quantitative Untersuchung zu verfolgen, insbesondere auch das hämoglobinzerstörende Vermögen verschiedener Organe einem womöglich quantitativen Vergleich zu unterziehen; andererseits hoffte ich aber auch die Frage beantworten zu können, welcher Art die chemischen Vorgänge sind, die den Blutfarbstoff in Autolysegemischen in so auffälliger Weise verändern und anscheinend in ungefärbte Derivate überführen. Ich hatte im Hinblick auf die Angabe Magnus-Levys[1]) über das Auftreten des Urobilins bei der Organautolyse insbesondere einen Übergang des Hämoglobins in Urobilinogen oder demselben nahestehende Substanzen im Auge.

Es sei mir gestattet, meine Untersuchungen, die zu einem unerwarteten, die physiologischen Hoffnungen allerdings enttäuschenden, aber immerhin nach mehrfacher Richtung instruktiven Resultate führten, im folgenden mitzuteilen.

I.

In einer Reihe von Versuchen bemühte ich mich zunächst, den zeitlichen Ablauf der Hämoglobinzerstörung bei der Leberautolyse quantitativ zu verfolgen.

1. 1000 g fein gehackte Rindsleber wurden in 2 l 0,85%iger Kochsalzlösung suspendiert; dazu wurde gelöstes Pferdebluthämoglobin (durch Wasserzusatz lackfarbig gemachter Blutkörperchenbrei) hinzugefügt, bis das Gemisch eine tiefrote Färbung angenommen hatte. Das Gemenge wurde nach Toluolzusatz in den Brutofen gestellt. In jeweilig entnommenen Proben wurde der Hämoglobingehalt nach Fleischl-Miescher, ev. nach entsprechender Verdünnung, colorimetrisch bestimmt. Die folgenden Zahlenangaben entsprechen den Werten der Fleischlschen Skala. Es fanden sich so nach 10facher Verdünnung sofort 80%, am 2. Tage nunmehr 6%, am 5. Tage 4,5%.

2. Analoger Versuch mit Schweineleber. Der Hämoglobingehalt des Gemisches betrug nach 10facher Verdünnung: sofort 44%, am 2. Tage 42%, am 5. Tage 30%.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 278, 1902.

3. Analoger Versuch mit Hundeleber (ohne Zusatz von gelöstem Hämoglobin). Hämoglobingehalt nach 20facher Verdünnung: sofort 85%, am 2. Tage 80%, am 4. Tage 65% und am 7. Tage 55%.

4. Analoger Versuch mit Katzenleber (mit Zusatz von gelöstem Hundebluthämoglobin). Hämoglobingehalt nach 20facher Verdünnung betrug sofort 53%, am 2. Tage 40%, am 4. Tage 15% und am 7. Tage 10%.

5. Analoger Versuch mit Rattenleber (6 g Leber in 20 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung mit 2 ccm Toluol, ohne Zusatz von gelöstem Hämoglobin). Hämoglobingehalt sofort nach 10facher Verdünnung 70%, am 3. Tage 60% und am 5. Tage 28%.

6. Analoger Versuch mit Rindsleber. Hämoglobingehalt nach 10facher Verdünnung betrug sofort 76%, am 2. Tage 56% und am 5. Tage 0%.

Wie aus den mitgeteilten Versuchen hervorgeht, vermochte ich also die Befunde von Heß und Saxl insofern zu bestätigen, als in der Tat bei der Autolyse unter Toluolzusatz die Lebern verschiedener Tiere sich befähigt erwiesen, den Blutfarbstoff mehr oder weniger schnell zum Verschwinden zu bringen.

II.

Wir gingen zunächst daran, festzustellen, inwieweit der Ablauf des Hämoglobinzerstörungsvorganges etwa durch die Natur des gewählten Antisepticums beeinflußt wird.

Zu diesem Zwecke wurden 160 g ganz frische Rindsleber mit Hilfe der sterilisierbaren Schneide- und Zerreibungsmaschine, Modell des Hygienischen Institutes in Berlin, in einen äußerst feinen und homogenen Brei verwandelt, sodann in 1600 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung suspendiert. Von dieser Suspension wurden Portionen von je 200 ccm in Glasbüchsen mit eingeschliffenem Stöpsel eingetragen. Zu jeder Probe wurden 30 ccm einer Lösung von Pferdeblut (in der doppelten Wassermenge gelöst) hinzugefügt. Als Antiseptica wurden hinzugefügt:

zu Probe a und b je 5 ccm Chloroform
" " c " d " 5 " Toluol
" " e " f " 5 " Chloroform + 5 ccm Toluol.

Die Proben wurden in den Brutofen gestellt und die Abnahme des Hämoglobingehaltes colorimetrisch verfolgt. Es fand sich nach

	1 Tag %	3 Tagen %	5 Tagen %	7 Tagen %
a)	780	0	—	—
b)	760	0	—	—
c)	760	660	400	150
d)	750	420	150	100
e)	750	90	6	0
f)	750	150	15	0

Nach Schluß des Versuches ergab die bakteriologische Prüfung, daß sämtliche Proben steril geblieben waren.

Aus diesen Versuchen ging hervor, daß der Hämoglobinzerstörungsprozeß durch die Natur des gewählten Antisepticums sehr wesentlich beeinflußt wird, insofern in den chloroformhaltigen Proben der Blutfarbstoff auffallend schneller verschwunden war.

III.

In einem weiteren Versuche wurde die autolytische Hämoglobinzerstörung durch verschiedene Organe in Parallelversuchen verglichen, wobei die geprüften Organe ein und demselben frisch geschlachteten Tiere entnommen waren.

Die Versuche wurden derart angesetzt, daß je 20 g Organbrei mit 170 ccm Kochsalzlösung, 30 ccm einer Rinderbluthämoglobinlösung, 5 ccm Chloroform und 5 ccm Toluol angesetzt wurden. Der colorimetrisch durchgeführte Vergleich des Hämoglobingehaltes ergab für die Probe mit

am	1. Tage %	4. Tage %	5. Tage %	7. Tage % im Brutofen
Leber . . .	540	70	19	0
Milz	540	0	—	—
Niere . . .	800	13	0	—
Darm . . .	540	0	—	—
Lunge . . .	640	16	0	—
Muskel . .	940	0	—	—

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Vermögen der Hämoglobinzerstörung allen Organen zuzukommen scheint.

IV.

Da es am nächsten lag, den Hämoglobinzerstörungsprozeß als einen fermentativen aufzufassen, wurde ein weiterer Versuch derart ausgeführt, daß eine Reihe von Proben mit je 5 g Muskelbrei, 50 ccm 85 %iger Kochsalzlösung, 10 ccm Hämoglobinlösung (1 Rindsblut : 4 Wasser) sowie mit 1,5 ccm Chloroform und 1,5 ccm Toluol angesetzt wurde. Die einzelnen Proben wurden aber zunächst auf 20 bzw. 30, 40, 50, 60, 70 und 80° kurze Zeit hindurch erwärmt, sodann erst in den Brutofen gestellt. Wurde die anfängliche Hämoglobinmenge gleich 700 % gesetzt, so ergab sich ein Hämoglobingehalt:

	am 3. Tage %	am 5. Tage %
In der auf 20° erwärmten Probe	19	10
„ „ „ 30° „ „	18	8
„ „ „ 40° „ „	9	0
„ „ „ 50° „ „	28	18
„ „ „ 60° „ „	20	10
„ „ „ 70° „ „	35	10
„ „ „ 80° „ „	32	8

Das Resultat dieses Versuches war ein durchaus unerwartetes, insofern eine Abnahme der Hämoglobinzerstörung

auch in den über 70° erwärmten Proben, (bei welcher Temperatur wir Enzymwirkungen aufgehoben oder doch hochgradig abgeschwächt zu sehen gewohnt sind), in keiner Weise zu bemerken war.

Die sich uns nunmehr aufdrängende Annahme, daß es sich bei dem Hämoglobinzerstörungsvorgange gar nicht um eine Wirkung der Organfermente, vielmehr um eine Wirkung der zum Zwecke der Antisepsis zugesetzten Chemikalien handle, fand durch folgenden Versuch ihre Bestätigung:

Je 30 ccm gelösten Blutes (1 Rinderblut : 2 Wasser) wurden mit 170 ccm physiologischer Kochsalzlösung und außerdem mit

a) 5 ccm Chloroform,

b) 5 „ Toluol + 5 ccm Chloroform,

c) 5 „ Toluol

versetzt und in den Brutschrank gestellt.

Der Hämoglobingehalt, der anfänglich gleich 970‰ gesetzt wurde, betrug nach 3 Tagen in

a) 0‰, in b) 160‰, in c) 520‰.

Dabei fiel uns auf, daß nach Maßgabe als die Entfärbung der hämoglobinhaltigen Flüssigkeit vor sich ging, sich ein blaßroter Niederschlag am Boden des Gefäßes absetzte.

Es drängte sich daher die Annahme auf, daß es sich bei der vermeintlichen Hämoglobinzerstörung um nichts anderes gehandelt habe, als um einen Koagulationsvorgang, bei dem unter der Wirkung der zugesetzten Chemikalien gelöster Blutfarbstoff sich in geronnenem Zustande abscheidet. Daß dieser einfache Sachverhalt der Aufmerksamkeit der Beobachter so lange Zeit hindurch entgehen konnte, liegt an dem Umstande, daß die Gerinnsel des koagulativ veränderten Blutfarbstoffs ziemlich unansehnlich und schwach gefärbt erscheinen, derart, daß sie, wenn sie sich dem Organbrei beimengen, der Wahrnehmung entziehen und nur, wenn man mit reinem Blute arbeitet, wie wir dies im letzten Versuch getan haben, deutlich in Erscheinung treten.

V.

Die Auffassung, daß das Verschwinden des Blutfarbstoffes an autolytischen Organflüssigkeiten wirklich nichts anderes bedeutet, als eine Koagulationsfällung des Blutfarbstoffes, setzt jedoch den exakten Nachweis voraus, daß die färbende

Komponente des Hämoglobins im Autolysegemisch tatsächlich unversehrt erhalten sei. Ich habe mich daher bemüht, diesen Nachweis in einwandfreier Weise dadurch zu erbringen, daß ich den Hämatingehalt in meinen Proben vor und nach der Autolyse quantitativ bestimmte, um auf diese Art darüber ins klare zu kommen, ob das Hämatin auch nach Entfärbung der Flüssigkeit sich tatsächlich in der Eiweißmasse noch intakt findet.

1. Proben von je 20 g Rindsleberbrei wurden mit 50 ccm 0,85 %iger Kochsalzlösung, 10 ccm gelösten Hämoglobins (1 Rinderblut : 2 Wasser) und 2 ccm Toluol angesetzt und teils frisch, teils nach 2 wöchigem Aufenthalt im Brutofen untersucht. Es wurde bei jeder Probe zum Zwecke der Hämatinbestimmung derart verfahren, daß dieselbe eingedampft und der Rückstand sodann mit 10 ccm konz. Natronlauge und 20 ccm Wasser bis zur vollständigen Lösung am Wasserbade digeriert wurde. Die Lösung wurde sodann mit 45 ccm 10 % H_2SO_4 und 45 ccm gesättigter NaCl-Lösung versetzt; dabei fiel ein massenhafter, bräunlichschwarzer Niederschlag aus, dieser wurde abfiltriert. Das Filtrat von demselben erschien zwar noch ziemlich stark gefärbt, doch ließ sich in demselben weder auf spektroskopischem Wege noch aber mit der Leukomalachitprobe[1]) Hämatin nachweisen. Der Niederschlag wurde mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, bis das Filtrat farblos war. Nun wurde der Niederschlag mitsamt dem Filter in einer Reibschale mit Alkohol, der 1 % H_2SO_4 enthielt, sorgfältig verrieben. Der hämatinhaltige alkoholische Extrakt wurde abfiltriert, mit säurehaltigem Alkohol nachgewaschen, die Flüssigkeit im Meßkolben auf 200 ccm aufgefüllt und nun colorimetrisch mit Hilfe des Colorimeters von Dubosqe mit einer alkalischen Hämatinlösung von 0,1 % verglichen. Es fand sich in zwei autolysierten Proben ein Hämatingehalt von 0,0666 g und 0,0582 g, im Mittel 0,0624 g Hämatin, in der nicht autolysierten Kontrollprobe ein Gehalt von 0,0612 g.

2. Analoger Versuch (mit Zusatz von 2 ccm Chloroform und 2 ccm Toluol): Der Hämatingehalt der zwei Wochen lang autolysierten Proben betrug 0,1071 g und 0,1056 g, im Mittel 0,1063 g. Der Hämatingehalt der nicht autolysierten Kontrollprobe betrug 0,1027 g.

3. 7 Proben wurden in folgender Weise angesetzt. 15 g Leberbrei + 150 ccm 0,85 %iger Kochsalzlösung + 30 ccm Hämoglobinlösung (1 Rindsblut : 1,5 Wasser). Ferner enthielten Probe a) und b) 5 ccm Chloroform, Probe c) und d) 5 ccm Toluol, Probe e) und f) 2,5 ccm Chloroform + 2,5 ccm Toluol. Eine weitere Probe g) diente als Kontrollprobe und wurde sogleich analysiert, während die anderen Proben zur Autolyse in den Brutofen gestellt wurden, bis die blutrote Färbung der Flüssigkeit einer blaßgelben Färbung Platz gemacht hatte.

---

[1]) Vgl. O. v. Fürth, Über eine neue Modifikation des forensischchemischen Blutnachweises. Zeitschr. f. ang. Chem. 24, 1625, 1911.

Die Hämatinbestimmung ergab

in a) 0,0588 g} im Mittel 0,0661 g
b) 0,0735 g}

in c) 0,0832 g} im Mittel 0,0838 g
d) 0,0845 g}

in e) 0,0781 g} im Mittel 0,0752 g
f) 0,0724 g}

in g) 0,0607 g

Trotzdem in allen diesen Fällen eine weitgehende Entfärbung sich vollzogen hatte, derart, daß die ursprünglich dunkelrot gefärbte Probe nach vollzogener Autolyse nunmehr eine gelbliche Färbung der überstehenden Flüssigkeit aufwies und trotzdem auch von einer stärkeren Färbung des Bodensatzes nichts zu sehen war, war in keinem Falle eine Abnahme des Hämatins zu beobachten; demnach hatte eine wirkliche Zerstörung des Blutfarbstoffes nicht stattgefunden.

Zusammenfassung.

Die Beobachtung von Heß und Saxl, derzufolge bei der antiseptischen Organautolyse ein Verschwinden des Blutfarbstoffes in Erscheinung tritt, konnte bestätigt werden, insofern, wenn man Organe unter Zusatz von Chloroform oder Toluol autolysiert, die von beigemengtem Blute herrührende rote Farbe des Autolysats im Laufe einiger Tage verschwindet, und die den Organbrei bedeckende Flüssigkeit nunmehr schwach gelblich gefärbt erscheint.

Gegenüber der Annahme, daß dieser autolytische Hämoglobinschwund zu den Vorgängen vitaler Hämoglobinzerstörung in irgendeiner direkten Beziehung steht, wurde jedoch gezeigt, daß es sich bei dem autolytischen Vorgange überhaupt nicht um eine weitgehende Zerstörung des Blutfarbstoffes handelt, daß vielmehr das in der Lösung befindliche Hämoglobin einfach unter der Einwirkung der zugesetzten Chemikalien (Toluol Chloroform) einer koagulativen Auslockerung anheimfällt, wobei sich ein schwach gefärbter Niederschlag dem Organbrei beimengt.

Daß die Hämatinkomponente des Blutfarbstoffes dabei nicht etwa zerstört wird, geht aus dem Umstande hervor, daß der gesamte Hämatingehalt eines bluthaltigen Organbreies bei der autolytischen Entfärbung keine Abnahme erfährt.

Über die Einwirkung des Methylalkohols auf das zirkulierende Blut.

Von

Soichiro Miura.

(Ausgeführt unter der Leitung des a. o. Prof. Dr. Otto v. Fürth im Physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 23. Januar 1913.)

Durch die zufällige Beobachtung, daß sich bei einem Tiere, dem ich gelegentlich einer Untersuchung eine Fettsubstanz, in Methylalkohol gelöst, injiziert hatte, das Bild einer schweren Anämie entwickelt hatte, wurde ich veranlaßt, die Frage einer Einwirkung des Methylalkohols auf das zirkulierende Blut systematisch zu prüfen. Meine Untersuchungen haben nun in der Tat eine bisher unbekannte Einwirkung des Methylalkohols auf das Blut bzw. die blutbildenden Apparate zutage gefördert, die schon angesichts der Aktualität, die die Methylalkoholvergiftung durch die bekannten Massenvergiftungen im Berliner Asyl für Obdachlose gewonnen hat, eine kurze Mitteilung meiner Befunde gerechtfertigt erscheinen lassen dürfte.

Soweit ich die Literatur[1]) übersehe, scheint über Einwirkung des Methylalkohols auf das zirkulierende Blut wenig Positives

[1]) Erben, Vergiftungen. Handbuch der ärztlichen sachverständigen Tätigkeit. 1910. — Kunkel, Handbuch der Toxikologie. 1901. — Stadelmann und Magnus-Levy, Über die in der Weihnachtszeit 1911 in Berlin vorgekommenen Massenvergiftungen. Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. 4 u. 5. — Levy, Über die Methylalkoholvergiftungen in Ungarn im Jahre 1909. Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. 4. — Hirschberg, Über Methylschnapsvergiftung. Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. 6. — Straßmann, Über die im Städtischen Asyl zu Berlin beobachteten Vergiftungen.

bekannt zu sein. Heinz[1]) erwähnt in seinem Handbuche, daß sich unter den Verbindungen der Fettreihe nur wenige Blutkörperchen zerstörende Gifte finden, und daß Alkohole und verwandte Substanzen im allgemeinen auf rote Blutkörperchen nicht einwirken. Fühners und Neubauers[2]) Untersuchungen beziehen sich nicht auf zirkulierende, sondern auf isolierte Blutkörperchen. Nach ihren Ergebnissen soll Methylalkohol diesen gegenüber eine schwächere lösende Wirkung entfalten als Äthylalkohol. P. Fränkel[3]), der die Opfer der Berliner Massenvergiftung anatomisch untersucht hatte, ist durch die starke Rötung der Haut bei den mit Methylalkohol vergifteten Leichen auf den Gedanken gebracht worden, daß „eine besondere Wirkung auf das Blut nicht ganz auszuschließen sei"; doch vermochte er diese Vermutung nicht näher zu begründen.

Meine Beobachtungen beziehen sich auf vier Kaninchen und einen Hund, die durch subcutane Injektionen verdünnten Methylalkohols vergiftet worden sind. Ich habe bei den Tieren in systematischer Weise folgende Untersuchungen ausgeführt: 1. Bestimmung des Hämoglobingehaltes mit Hilfe des Fleischl-Miescherschen Hämometers. 2. Zählung der roten

---

Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 3. — Förster, Über die Wirkung des Methylalkohols. Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 5. — Lewin, Über die Verwendungsgefahr des Methylalkohols und anderer Alkohole. Med. Klin. 1912, Nr. 3. — Harnack, Über die Giftigkeit des Methylalkohols. Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 8. — Derselbe, Die akute Erblindung durch Methylalkohol und andere Gifte. Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 36. — Pohl, Über den Einfluß von Arzneistoffen auf die Zahl der kreisenden weißen Blutkörperchen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 25, 1889. — Joffroy et Serveaux, Mensuration de la toxicité experimentale et de la toxicité vraie du l'alcool méthylique. Arch. de Méd. expérim. 8, 1896. Ref. in Schmidts Jahrb. d. Med. 257, 1898.

[1]) Heinz, Handbuch der experimentellen Pathologie u. Pharmakologie. 1904.

[2]) Führer und Neubauer, Quantitative Bestimmung der hämolytischen Wirkung einwertiger Alkohole. Centralbl. f. Physiol. 20, 1907. — Dieselben, Hämolyse durch Substanzen homologer Reihen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 1907.

[3]) P. Fränkel, Die anatomischen Befunde bei den Vergiftungen des Berliner Asyls für Obdachlose. Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 2.

und weißen Blutkörperchen mit Hilfe der Thoma-Zeißschen Zählkammer, wobei teilweise eine zahlenmäßige Sonderung der weißen Formelemente in Lymphocyten, Pseudoeosinophile (Neutrophile), Eosinophile und Mastzellen erfolgte. 3. Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Blutes mit Hilfe des Capillarpyknometers. Überdies wurde auf das Auftreten von Hämoglobin, Urobilin, Gallenfarbstoff, Eiweiß und Zucker im Harne geachtet.

Ich gehe nunmehr zur Mitteilung meiner Befunde über.

Versuch 1.

Kaninchen, 3000 g.

19. XII. 1911 Injektion von 10 ccm Methylalkohol (Kahlbaum, frei von Aceton).

Datum	Subcutan injizierte Methylalkoholmenge	Hämoglobin der Fleischlschen Skala %	Rote Blutkörperchen	Spez. Gewicht	Bemerkungen
1911					
6. XII.	—	73	5450000	—	
15.	—	75	5185000	—	
16.	—	75	4755000	—	
18.	—	74	5455000	1,054	
19.	—	75	5270000	1,055	
19.	Methylalkohol 10 ccm + Wasser 40 ccm				
20.	—	56	4240000	—	
21.	—	55	4980000	1,049	
22.	—	52	3320000	1,050	Seit einigen Tagen frißt das Tier nicht gut, erscheint niedergeschlagen.
1912					
5. I.	—	23	2680000	1,032	
10.	—	—	—	—	Das Tier wurde tot gefunden.

Sektionsbefund.

Allgemeine Anämie hohen Grades. Injektionsstelle nicht verfärbt. Peritoneum glatt, blaß, ohne Petechien, kein Exsudat, ebenso Pleura. Leber, Milz und Nieren zeigen makroskopisch weder Verfettung noch Hämorrhagien. Magen- und Darmschleimhaut sehr blaß, sonst nicht auffällig verändert. Lungen anämisch, keine Infiltrationsherde.

Es hat sich in diesem Falle zweifellos um eine Anämie schweren Grades gehandelt, wobei die Zahl der roten Blut-

körperchen auf etwa die Hälfte, der Hämoglobingehalt gar auf ein Drittel der Norm reduziert und das spezifische Gewicht des Blutes sehr merklich abgesunken war.

Versuch 2.

Kaninchen, 3010 g.

Datum	Subcutan injizierte Methylalkoholmenge	Hämoglobin der Fleischlschen Skala %	Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen	Spez. Gew.	Bemerkungen
1912						
9. I.	—	59	4005000	—	1,050	
11.	—	60	4435000	—	1,051	
12.	—	52	4330000	7400	—	
13.	—	52	4400000	—	1,046	
15.	—	50	4290000	7600	1,045	
15.	hy lalkohol 10 c cm + Wasser 40 ccm					
16.	—	45	4125000	16200	—	
17.	—	35	2460000	5600	1,037	
18.	—	34	2715000	7800	1,036	
19.	—	28	2045000	5300	—	
22.	—	21	1555000	8000	1,027	
23.	—	—	—	—	—	Das Tier frißt wenig, erscheint matt u. wird in derselben Nacht tot gefunden.

Die Untersuchung zahlreicher gefärbter Blutpräparate zeigte nach der Injektion Erscheinungen einer hochgradigen Poikilocytose und eine deutliche Polychromatophilie. Kernhaltige rote Zellen und basophile Punktierungen wurden nicht gefunden.

Der Sektionsbefund zeigte außer Zeichen einer allgemeinen hochgradigen Anämie nichts Auffälliges.

Aus der mikroskopischen Untersuchung der Nieren, Leber, Milz und des Herzens ergab sich nichts Auffälliges und bei Sudanfärbung keine Zeichen von Verfettung.

Auch in diesem Falle war die Anämie sehr ausgesprochen; höchst auffällig war die am zweiten Tage nach der Injektion beobachtete hochgradige vorübergehende Leukocytose.

Versuch 3.

Kaninchen, 3500 g.

Datum	Subcutan injizierte Methylalkoholmenge	Hämoglobin der Fleischl-schen Skala %	Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen	Spez. Gew.	Bemerkungen
1912						
28. II.	—	70	5120000	7800	—	
29.	—	69	4700000	5600	1,045	
1. III.	—	69	4415000	6800	1,045	
4.	—	69	4535000	4200	1,050	
5.	—	69	5200000	8900	1,050	
7.	Methylalkohol 12 ccm + Wasser 30 ccm					
9.	—	67	4510000	6800	—	
12.	—	69	4580000	5400	—	
13.	—	68	5085000	—	—	
14.	Methylalkohol 20 ccm + Wasser 30 ccm					
15.	—	67	5225000	9700	1,049	Das Tier ist deutlich niedergeschlagen und frißt wenig.
16.	—	73	5530000	10400	1,048	
19.	—	72	5040000	8000	—	

Der Befund der weißen Blutkörperchen:

	Lymphocyten	Pseudoeosin.	Eosin.	Überg.	Mastzellen
Vor der Injektion (5. III.)	31,3	54,6	3,4	4,6	5,8
Am 2. Tage nach der ersten Injektion (9. III.)	21,1	58,8	2,2	8,8	8,8
Am 2. Tage nach der zweiten Injektion (16. III.)	11,0	73,0	3,0	6,0	7,0

Sehr auffallend war in diesem Falle die am 2. Tage nach der wiederholten Injektion beobachtete relative Vermehrung der pseudoeosinophilen Leukocyten.

Der Befund roter Zellen an den gefärbten Präparaten ergab außer einer Poikilocytose und Polychromatophilie, die kaum außerhalb der physiologischen Grenzen lag, und

außer dem spärlichen Auftreten blasser roter Zellen nichts Abnormes.

Im **Harn** fanden sich an den der Injektion folgenden Tagen **Hämoglobin** und **Eiweiß**. Im Sediment fanden sich ziemlich reichliche desquamierte Nierenepithelien, spärliche hämoglobinarme rote Blutzellen, jedoch kein Cylinder.

Versuch 4.

Kaninchen, 2900 g.

Datum	Subcutan injizierte Methylalkoholmenge	Hämoglobin %	Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen	Spez. Gew.	Bemerkungen
1912						
27. IV.	—	73	5330000	6200	1,048	
29.	—	72	5510000	4800	1,046	
30.	—	73	5585000	6200	1,044	
1. V.	Methylalkohol 15 ccm + Wasser 35 ccm					
2.	—	65	5410000	14100	1,043	Das Tier ist deutlich niedergeschlagen.
4.	—	65	4860000	7100	1,049	
6.	—	68	5190000	9200	1,050	

Weiße Blutkörperchen.

	Lymphocyten	Pseudoeosin.	Eosin.	Überg.	Mastz.
Vor der Injektion (30. IV.)	36,76	45,5	4,4	8,8	4,4
Am 3. Tage nach d. Injektion (4. V.)	29,8	49,3	1,3	10,3	9,1
Am 5. Tage nach d. Injektion (6. V.)	27,2	53,2	2,59	11,6	5,1

Befund roter Blutkörperchen an den gefärbten Präparaten ergab nichts Auffälliges.

Die Harnuntersuchung ergab an den der Injektion folgenden Tagen deutliche Albuminurie, jedoch weder Auftreten von Hämoglobin noch von Urobilin und Gallenfarbstoffen im Harne.

Versuch 5.

Hund, 6700 g.

Datum	Subcutan injizierte Methylalkoholmenge	Hämoglobin %	Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen	Spez. Gew.	Bemerkungen
1912						
23. I.	—	96	5980000	10300	1,064	
26.	—	94	6245000	8400	1,048	
13. II.	—	95	5530000	—	—	
14.	—	96	6205000	13200	1,055	
15.	Methylalkohol 20 ccm + Wasser 40 ccm					
17.	—	93	5940000	12200	1,058	Das Tier ist ziemlich munter, frißt gut
19.	—	95	6940000	8600	1,059	
21.	Methylalkohol 40 ccm + Wasser 20 ccm					
23.	—	92	5835000	—	1,049	Das Tier ist sehr niedergeschlagen, frißt wenig.
24.	—	90	6285000	15400	1,051	
26.	—	95	5990000	9000	1,050	

Weiße Blutkörperchen.

	Lymphocyten	Neutrophile	Eosin.	Überg.	Mastz.
Vor der Injektion (14. II.)	25,0	58,6	7,6	5,4	3,2
Am 2. Tage nach d. zweiten Injektion (23. II.)	11,8	75,5	4,5	7,2	0,9

Der Befund der weißen Blutkörperchen ergab am 2. Tage nach der zweiten Methylalkoholinjektion insofern eine auffällige Verschiebung, als die Lymphocyten vermindert, die Neutrophilen vermehrt erschienen.

Für die roten Blutkörperchen ergab die Untersuchung der gefärbten Präparate nichts Auffälliges.

Die Harnuntersuchung ergab im Anschlusse an die Injektionen des Methylalkohols deutliche Albuminurie, ferner Urobilinurie geringen Grades. Hämoglobin und Gallenfarbstoff traten nicht im Harn auf.

Überblicken wir nunmehr die erhaltenen Resultate, so sehen wir, daß sich bei zweien unserer Versuchstiere im Anschluß an

die Methylalkoholinjektionen Anämie ausgebildet hat. Beim Rest unserer Versuchstiere wurde eine Verminderung der Erythrocytenzahl vermißt. Das Verhalten der weißen Blutkörperchen, insbesondere das Absinken der Lymphocyten bei gleichzeitiger relativer Zunahme der Pseudoeosinophilen bzw. Neutrophilen im Zusammenhange mit der gelegentlichen Beobachtung einer Hämoglobinurie läßt wohl kaum eine andere Deutung zu, als daß wir auch in diesen Fällen eine toxische Beeinflussung des blutbildenden Apparates durch den Methylalkohol annehmen dürfen.

Auch sei hier darauf hingewiesen, daß Meyer und Emmerich[1]) typisches Absinken der Lymphocytenzahl bei Anfällen paroxismaler Hämoglobinurie wahrgenommen haben.

Ob es sich in unserem Falle um eine Wirkung des Methylalkohols als solchen handelt, der nach den übereinstimmenden Angaben von Pohl[2]), sowie Völtz und Dietrich[3]) im Körper nur langsam angegriffen wird, oder ob wir es hier etwa mit einer Wirkung der Oxydationsprodukte desselben, etwa des Formaldehyds oder der Ameisensäure zu tun haben, mag vorderhand dahingestellt bleiben.

---

[1]) Meyer und Emmerich, Arch. f. klin. Med. 96, 1908.

[2]) Pohl, Über die Oxydation des Methyl- und Äthylalkohols im Tierkörper. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31.

[3]) Völtz und Dietrich, Die Beteiligung des Methylalkohols und des Äthylalkohols am gesamten Stoffumsatz im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. 40.

Über das Verhalten des jodparanucleinsauren Eisens im Organismus.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. Januar 1913.)

Ebenso wie Arsen[1]) nimmt das paranucleinsaure Eisen auch Jod in organischer Bindung in das Molekül auf. Man kann dieselbe auf verschiedenen Wegen erhalten, am einfachsten durch längeres Schütteln des paranucleinsauren Eisens mit überschüssiger Jodjodkaliumlösung (10 g Jod, 20 g Jodkalium zu 1 l gelöst, sogenannte Lugolsche Lösung). 25 g paranucleinsaures Eisen (Triferrin) werden in einer Glasstöpselflasche 2 Stunden lang mit 250 ccm Lugolscher Lösung im Schüttelapparat energisch geschüttelt, filtriert — ev. nach Wasserzusatz — und sorgfältig ausgewaschen. Trotz längeren Waschens haften dem so dargestellten Präparat noch Spuren von Jod hartnäckig an, die sich durch längeres Liegenlassen an der Luft oder Auswaschen mit Alkohol und Äther oder endlich durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbad entfernen lassen.

Statt dessen kann man auch paranucleinsaures Eisen mit dem 10fachen an Lugolscher Lösung etwa 1 Stunde lang auf dem nicht ganz siedenden Wasserbad gelind erhitzen, wobei sich allerdings etwas Jod verflüchtigt.

Das so dargestellte Jodtriferrin stellt ein rötliches Pulver dar mit folgenden Eigenschaften:

1. Beim Schütteln mit Chloroform liefert es in der Regel ein schwach rosa gefärbtes Filtrat, entsprechend einem ganz minimalen Gehalt an freiem Jod.

---

[1]) Diese Zeitschr. **18**, 321.

2. In Natriumcarbonatlösung von 0,3 bis 0,5 % löst es sich auf[1]), die filtrierte Lösung gibt beim Neutralisieren mit verdünnter Salzsäure einen Niederschlag von unverändertem Jodtriferrin.

3. 0,3 g mit 100 ccm Salzsäure von 0,15 % HCl und 0,5 Pepsin 3 Stunden lang im Thermostaten bei 40° digeriert, bleibt größtenteils ungelöst. Das Filtrat färbt Chloroform beim Schütteln damit schwach rötlich; etwas stärkere, aber auch immer schwache Reaktion tritt ein, wenn man das Filtrat nach Zusatz von H_2SO_4 und $NaNO_2$ mit $CHCl_3$ schüttelt. Diese Erscheinung deutet auf eine geringe Abspaltung von Jodwasserstoff bzw. Bildung von Jodeisen hin.

Die Analysen ergaben für Jod, Eisen und Phosphor, die hier allein von Interesse sind, folgende Werte für die bei 110° getrocknete Substanz: Präparat I: 0,5358 g gaben 0,0808 AgJ, 0,7686 g gaben 0,1736 Fe_2O_3 und 0,0665 $Mg_2P_2O_7$.

Präparat II: 0,5217 g gaben 0,0776 AgJ, 0,5932 g gaben 0,1350 Fe_2O_3 und 0,0552 $Mg_2P_2O_7$.

Präparat III: 0,5296 mit KOH im Nickeltiegel geschmolzen, die Lösung auf 500 ccm. Von dieser Lösung waren 18,15 ccm (unter Zusatz von H_2SO_4 und $NaNO_2$) erforderlich zur Erzielung von Farbengleichheit bei Anwendung von 20 ccm Chloroform mit einer Lösung, die das Jod aus 2 mg KJ in 20 ccm Chloroform enthält. 0,7884 g gaben 0,1708 F_2O_3. Hieraus ergibt sich folgende Zusammensetzung in Prozenten:

	J	Fe	P
I	8,15	15,81	2,42
II	8,04	15,93	2,60
III	7,95	15,16	—

Bezüglich der angewendeten Methoden sei folgendes bemerkt:

1. Die Bestimmung des Jodes geschah durch mit Schmelzen mit chloridfreiem Ätzkali unter vorgängigem Wasserzusatz im Nickeltiegel und Fällung des HJ als AgJ, nur im Präparat III colorimetrisch.

2. Zur Bestimmung des Eisens wurden ca. 0,5 bis 0,7 g Substanz mit etwa dem 30fachen Gewicht Salpetermischung sehr sorgfältig gemischt, dann in der Platinschale vorsichtig geschmolzen, die Schmelze in Wasser gelöst, das Fe_2O_3 abfiltriert, mit einer 10 bis 15 %igen Ammoniumnitratlösung gewaschen und geglüht. Bezüglich der Einzelheiten des Verfahrens und ihre Begründung sei auf meine Mitteilung in der Zeitschr. f. physiol. Chem. 83, 160 verwiesen.

3. Der Phosphor wurde im Filtrat + Waschwasser der Eisenbestimmung in der üblichen Weise als $Mg_2P_2O_7$ bestimmt nach vorgängiger Fällung mit Molybdänlösung.

[1]) Die etwas schwächer jodierte Verbindung (mit rund 7 % Jod) löst sich leichter in Alkali, als die mit 8 % Jodgehalt (siehe weiter unten).

Ich möchte hieran noch einige Bemerkungen bezüglich des Nachweises des Jodes zunächst im Harn knüpfen.

Spuren von Jod lassen sich, auch wenn dasselbe als Jodid vorhanden ist, nicht direkt nachweisen, vielmehr ist hierzu die vorgängige Zerstörung der organischen Substanz erforderlich, augenscheinlich weil Spuren von frei gewordenem Jod durch organische Harnbestandteile gebunden werden. Ich habe mich hiervon durch einige Versuche überzeugt. Wenn man zu 10 ccm menschlichen Harn mittlerer Konzentration oder Hundeharn nach Fleischfütterung 1 ccm einer 0,01 $^0/_0$ igen KJ-Lösung setzt, entsprechend 0,1 mg KJ, so gelingt der Nachweis direkt nicht, wohl aber nach Zerstörung der organischen Substanz, doch scheint auch in diesem Falle die äußerste Grenze erreicht zu sein. Was die Ausführung des Nachweises betrifft, so wurden die angewandten 10 bzw. 11 ccm mit Schwefelsäure stark angesäuert, mit Natriumnitritlösung versetzt, dann im Schütteltrichter mit 8 bis 10 ccm Chloroform energisch durchgeschüttelt. Recht störend wirkt dabei beim Harn selbst die sich bildende Emulsion, die sich in diesem Falle nicht durch Alkohol beseitigen läßt, da der Alkohol die Jodreaktion stört. (Vgl. hierüber meine Mitteilung in der Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, 164.) Die Zerstörung der organischen Substanz kann durch Behandlung mit Kalihydrat im Nickeltiegel oder durch Schmelzen mit Salpetermischung in der Platinschale geschehen. In beiden Fällen wird der Harn beinahe bis zum Sirup eingedampft. Beide Verfahren sind als gleichwertig anzusehen, vorausgesetzt, daß man nicht unnötig hoch und nicht unnötig lange erhitzt, die Reaktion fällt bald nach dem einen bald nach dem anderen Verfahren stärker aus.

Die Ausführung des Kaliverfahrens bietet beim Harn keine Schwierigkeiten: bemerkenswert ist, daß die alkalische Lösung nach dem bloßen Ansäuern an $CHCl_3$ kein Jod abgibt, sondern erst nach dem Zusatz von Nitrit, also kein Jodat enthält (oder vorsichtiger ausgedrückt: keine Oxydationsstufe des Jodes). Die Bildung desselben wird wohl durch die große Menge der organischen Substanz verhindert.

Für den getrockneten und gepulverten Hundekot ist das Salpeterschmelzverfahren vorzuziehen, da sich bei dem Kaliverfahren infolge des Fettgehaltes des Kotes in der Regel ein höchst lästiges Schäumen bemerkbar macht. Ähnliches gilt auch für die Organe. Beim Kaninchenkot ist diese Schwierigkeit nicht zu bemerken.

Versuch 1.

Kaninchen von 2600 g Körpergewicht erhält bei Kohlfütterung an 10 aufeinanderfolgenden Tagen je 0,25 g, also im ganzen 2,5 g jodparanucleinsaures Eisen mit 7,3 $^0/_0$ Eisen, die erste Dosis am 11. IV. 1912. Dasselbe[1]) wurde mit einer kleinen

[1]) Im folgenden, der Kürze halber, meistens mit J-P-E. oder Jodtriferrin bezeichnet.

Quantität feingehacktem Kohl gut verrührt, dem Tier des Morgens vorgesetzt, erst wenn es diesen gehackten Kohl verzehrt hatte, erhielt es weiteres Futter. Die geringen Reste, die etwa in der Reibschale blieben, wurden mit der ersten Portion des zweiten Tages aufgefressen.

Das Verhalten des Kaninchens war vollständig normal, die Freßlust unvermindert, der Kot geformt. Harn und Kot wurden vollständig gesammelt. 48 Stunden nach der letzten Fütterung wurde das Tier getötet.

1. Untersuchung des Harnes.

Der vom 11. zum 12. IV. gelassene Harn erwies sich schon jodhaltig, jedoch schwach, ebenso gab der Harn der letzten 24 Stunden, d. h. 48 Stunden nach der letzten Zufuhr von J-P-E, nur schwache Jodreaktion.

Die ganze im Laufe von 10 Tagen gesammelte und mit Chloroform konservierte Harnquantität betrug 4775 ccm. Der Harn ist zucker- und eiweißfrei.

Der Jodgehalt, in 100 ccm nach dem Eindampfen und Schmelzen mit Kalihydrat, betrug, colorimetrisch bestimmt, 3,08 bzw. 3,11 mg. Daraus berechnen sich im ganzen 0,1485 Jod.

Eingeführt sind 0,1825 Jod, also durch den Harn ausgeschieden, 90,82 % des eingeführten. Aus 200 ccm wurden Chloride und Jodide durch Silbernitrat ausgefällt, das Filtrat mit H_2S entsilbert, filtriert, H_2S aus dem Filtrat durch CO_2 entfernt, dann mit Na_2CO_3 neutralisiert, mit Salpetermischung geschmolzen. Die Lösung der Schmelze gab mit H_2SO_4 und $CHCl_3$ nur schwache Jodreaktion.

Zur Feststellung der Menge des organisch gebundenen Jodes wurde 1 l Harn eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und wie oben behandelt. Es trat eine äußerst heftige explosionsartige Verbrennung ein mit hoher Temperatursteigerung. Offenbar war die Quantität der Salpetermischung, trotzdem schon recht viel genommen war, gegenüber der beträchtlichen Quantität organischer Substanz nicht groß genug, um einen ruhigen Ablauf der Verbrennung zu bewirken. (Hierzu ist bekanntlich stets ein beträchtlicher Überschuß erforderlich.) Die wässerige Lösung des Rückstandes gab nur schwache Jodreaktion: offenbar war bei der hohen Temperatur das KJ verdampft, vielleicht auch in KJO_3 übergegangen.

Der Versuch wurde wiederholt, zur Ausfällung der Chloride und Jodide jedoch nicht Silbernitrat, sondern Silberacetatlösung angewendet, sonst

ebenso verfahren. Der Rückstand wurde im Nickeltiegel mit Ätzkali erhitzt, Schmelze mit Wasser ausgezogen und nachgewaschen, die rückständige Kohle im Platintiegel verascht, der wässerige Auszug der Asche mit dem ersten Auszug vereinigt und eingedampft. Der Jodgehalt ist sehr gering, ungefähr entsprechend 1,2 mg Jod.

Zur vorläufigen Orientierung über die Natur der jodhaltigen organischen Substanz wurde 1 l Harn eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet, in Wasser aufgenommen, mit H_2SO_4 kongosauer gemacht, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherauszüge abdestilliert und verdunstet, nochmals mit Wasser übergossen und verdunstet, um Jodwasserstoffsäure möglichst zu entfernen, dann in verdünnter Natriumcarbonatlösung aufgenommen, die alkalische Lösung zur Entfernung von Verunreinigungen mit Äther geschüttelt, dann wieder angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther hinterläßt nur sehr wenig Rückstand. Dieser wurde mit heißem Wasser extrahiert: in diesem Auszug war kein Jodalkali bzw. HJ nachweisbar. Der gebliebene ölig-harzige Rückstand in Na_2CO_3 gelöst, mit Salpetermischung geschmolzen. Die Schmelze gab starke Jodreaktion.

Zur Kontrolle des Verfahrens wurden 500 ccm Kaninchenharn von Kohlfütterung mit 0,1 KJ versetzt und ebenso behandelt. Der betreffende Rückstand gab nach dem Schmelzen mit Salpetermischung keine Jodreaktion. Als dagegen 500 ccm Harn, mit 0,1 KJ versetzt, ebenso behandelt wurden, der Äther jedoch nicht zur Trockne gedampft, sondern direkt mit Na_2CO_3-Lösung geschüttelt und dann weiter behandelt wurde, waren in der betreffenden Schmelze doch Spuren von Jod nachweisbar.

Aus dem Versuche ergibt sich also, daß in dem Harn nach Zuführung von J-P-E. neben dem Alkalijodid auch eine kleine Quantität einer in Äther löslichen jodhaltigen Säure vorhanden ist.

2. Untersuchung der Darmentleerungen.

Die an den 10. resp. 11. Versuchstagen entleerten Faeces wurden gesammelt, dazu noch der Inhalt des Mastdarms, soweit er geformt war. Gewicht des durch längeres Stehen an der Luft getrockneten Kotes 35,9 g.

Zur Untersuchung auf Jodgehalt wurden 5 g mit 10 g Kalihydrat und Wasser durch längeres Erhitzen verflüssigt, im

Nickeltiegel verkohlt, die Kohle gut mit Wasser ausgezogen, dann in der Platinschale verbrannt. Es hinterblieb eine graurötliche, eisenhaltige Asche, die mit Wasser ausgezogen wurde. Die wässerigen Auszüge wurden vereinigt und auf 20 ccm eingedampft, es war kein Jodid nachweisbar, die Resorption des Jodes ist also vollständig.

3. Untersuchung des Mageninhaltes.

Der ganze Mageninhalt mit Kalihydrat und Wasser eingedampft, im Nickeltiegel verkohlt, mit Wasser extrahiert, der wässerige Auszug, der noch viel organische Substanz enthielt, nochmals verascht und mit Wasser ausgezogen, in dem stark eingedampften Auszug ist kein KJ nachweisbar. Es ist also nach 48 Stunden das Jodtriferrin völlig in den Darm übergetreten.

4. Untersuchung des Darmes nebst Inhalt.

Da die Sammlung des Darminhaltes sich als untunlich erwies, wurde der ganze Darm mit Inhalt vom Pylorus bis zum Mastdarm in Alkohol gebracht, in diesem längere Zeit belassen, dann mit der Schere ein gleichmäßiger Brei hergestellt und mit einer reichlichen Quantität Alkohol ausgezogen, dann durch Leinwand koliert und ausgepreßt. Das erhaltene etwas fetthaltige Kolat (der Rückstand wurde nicht weiter untersucht) wurde zur Zurückhaltung des Fettes mit Kieselgur geschüttelt und filtriert. Das nicht ganz klare Filtrat, eingedampft und mit Salpetermischung geschmolzen, gab nur spurenweise Jodreaktion. Der allmählich eingetrocknete Filterrückstand wurde mit Äther extrahiert. Der fetthaltige Verdampfungsrückstand gab im Wasser kein Alkalijodid ab, dagegen war solches nach dem Schmelzen mit Salpetermischung nachweisbar, es scheint also in den Darmwandungen etwas jodhaltiges Fett enthalten zu sein.

5. Untersuchung der Leber.

Leber sehr dunkel gefärbt. Gewicht 55 g, nach dem Zerkleinern 51 g erhalten, diese Quantität mit Alkohol und Äther extrahiert: organisch gebundenes Jod darin nicht nachweisbar, auch kein Alkalijodid. Der mit Alkohol und Äther erschöpfte lufttrockene Rückstand wog 11,839 g. Die Eisenbestimmung in 3,217 g desselben ergab 0,0104 $FePO_4$. Daraus berechnet

sich für die ganze Leber 15,31 mg Fe, für 100 g Leber 27,8 mg Fe. Da die Leber vom Kaninchen von $2^1/_2$ kg Körpergewicht durchschnittlich nur 9 mg Eisen enthält[1]), so ist also durch die Fütterung mit Jodtriferrin der Eisengehalt der Leber verdreifacht.

Fütterungsversuch 2.

Kaninchen von 3260 g Körpergewicht, erhält an 5 aufeinander folgenden Tagen je 1 g J-P-E. mit rund 8% Jod und 15,16% Fe im Präparat, also im ganzen 0,4 g Jod und 0,758 g Fe. Die Fütterung begann am 24. IX.

Das Tier bleibt munter und bei guter Freßlust. Der Harn am 24. enthält reichlich Jodalkali, ebenso der am 25., 26., 27., 28. (Harn der Fütterungstage). Auch an den beiden folgenden Tagen war Jodalkali noch direkt nachweisbar, in dem Harn vom 1. X. dagegen nicht mehr, ein wenig noch in 50 ccm nach dem Schmelzen mit Salpetermischung.

Die Ausscheidung überdauerte die Fütterung also etwa drei Tage.

Zur Untersuchung auf organisch gebundenes Jod wurde der ganze Harn verwendet (in zwei Anteilen verarbeitet). In der üblichen Weise wurde ein Alkoholauszug hergestellt, verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, kongosauer gemacht und hintereinander mit Äther und Essigäther erschöpft. Die Auszüge wurden abdestilliert und völlig verdunstet, Wasser hinzugesetzt und nochmals verdunstet. Die alkalische Lösung zur Reinigung mit Äther ausgeschüttelt, dann wieder angesäuert und nochmals mit Äther behandelt. Der beim Verdunsten des Ätherauszuges verbleibende Rückstand erwies sich beim Ausziehen mit Wasser als frei von Jodalkali bzw. Jodwasserstoff. Derselbe wurde in Natriumcarbonat gelöst, mit Salpetermischung geschmolzen. Die colorimetrische Bestimmung ergab in demselben nur 11,3 mg Jod.

Mosse und Neuberg[2]) ist es vor einiger Zeit gelungen, aus dem Harn eines mit einem käuflichen Jodeiweißpräparat „Jodeigon“ gefütterten Kaninchens o-Jodhippursäure zu isolieren. Nimmt man an, daß diese auch hier vorgelegen hat, so würden

---

1) Vgl. Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 260.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 427.

sich für den gesamten Harn nur 0,027 Jodhippursäure ergeben, an deren Reindarstellung natürlich nicht zu denken ist.

Um die Vollständigkeit der Resorption des Jodtriferrins festzustellen, einschließlich der etwaigen Ausscheidung von Jod durch den Darm, wurde der an den fünf Versuchstagen entleerte Kot untersucht. Das Gewicht desselben betrug 33 g lufttrocken; 5 g desselben wurden auf Jodgehalt untersucht: es ließ sich nichts nachweisen. Das Jod des J-P-E. war also innerhalb 24 Versuchsstunden vollständig resorbiert, auch kein resorbiertes Jod durch den Darm wieder ausgeschieden in Übereinstimmung mit dem ersten Versuch.

Anders steht es mit dem in dem J-P-E. zugeführten Eisen.

Zur Feststellung des Eisengehaltes wurden 5 g verascht, mit Wasser ausgezogen, das kein Eisen aufnahm, der Rückstand getrocknet und nochmals gelinde geglüht, dann mit Salzsäure behandelt: das Eisen ging dabei in Lösung. Der Rückstand erwies sich als eisenfrei. Die filtrierte Lösung wurde zur Abscheidung von SiO_2 zur Trockne gedampft usw. Der SiO_2-Gehalt war minimal. Die Lösung wurde mit etwas Salpetersäure erhitzt, um etwa vorhandenes Eisenoxydul in Oxyd überzuführen, dann auf 250 ccm gebracht, in 50 ccm, entsprechend 1 g Kot, das Eisen als $FePO_4$ bestimmt (unter Auswaschen desselben mit 30%iger Ammonacetatlösung). Es wurden erhalten 0,0371 $FePO_4$ mit der charakteristischen graublauen Färbung. Für die ganze Quantität berechnen sich somit 1,2243 $FePO_4$. Davon ist der Gehalt von normalem, ebenso untersuchtem Kot bei Kohlfütterung ohne Eisen abzuziehen = 0,1471 g $FePO_4$, auf das verfütterte J-P-E. also 1,0772 g $FePO_4$ = 0,408 Fe zu beziehen.

Die Berechnung ergibt, daß von den im verfütterten Jodtriferrin enthaltenen 0,758 g Eisen ein sehr erheblicher Teil, nämlich 0,359 g = 46% resorbiert sind. Dabei ist allerdings in Betracht zu ziehen, daß höchstwahrscheinlich noch ein Rest unresorbierter Substanz im Darm vorhanden war, denn man kann bei Kaninchen natürlich nicht bestimmt darauf rechnen, daß die Ausscheidung durch den Kot bei irgendeiner mit dem Futter gegebenen Substanz innerhalb der nächsten 24 Stunden nach der letzten Verabreichung derselben beendet ist, eine fehlerhafte Annahme, die in neuerer Zeit vielfach gemacht worden ist. Die Quantität des nicht resorbierten Eisens wird also in Wirklichkeit etwas größer gewesen sein, als es nach dieser Berechnung erscheint, immerhin kann die Resorption als sehr gut bezeichnet werden, um so mehr, als die verabreichte Quantität der Verbindung sehr groß, ja enorm war. Bezieht man dieselbe auf den

Menschen, so würde sie etwa 20 g J-P-E. pro Tag oder 100 g an den fünf Versuchstagen mit 3,03 g Fe pro Tag resp. 15,16 g Fe an den fünf Tagen betragen, von denen natürlich auch beim Menschen nur ein Bruchteil zur Resorption gelangen würde. So große Gaben sind natürlich praktisch vollkommen ausgeschlossen. Es ist auch ziemlich gleichgültig, wieviel von dem verfütterten Eisen im Kote wiedererscheint. Von ausschlaggebender Bedeutung ist nur, wie sich der Eisengehalt der Leber stellt, und für diesen ist durch den vorigen Versuch ein Ansteigen auf das Dreifache des Normalen festgestellt worden, ein Verhalten, das, abgesehen von dem Triferrin, bisher von keiner anderen Eisenverbindung nachgewiesen worden ist.

Weiterhin geht aus dem Umstande, daß im Kot in beiden Versuchen gar kein Jod nachweisbar war, hervor, daß im Darm wenigstens eine teilweise Spaltung stattgefunden haben muß.

Fütterungsversuch 3.

Dieser Versuch ist an einem Hunde angestellt. Er sollte hauptsächlich dazu dienen, festzustellen, wie beim Fleischfresser größere Dosen, an mehreren Tagen hintereinander gegeben, vertragen wurden und wie lange die Ausscheidung an Jod die Verabreichung überdauert. Außerdem hoffte ich auch vielleicht die jodhaltige organische Säure in reinem Zustande zu erhalten.

Ein Hund von ca. 21 kg Körpergewicht erhielt am 24. X. 12 3 g J-P-E., am 24., 25., 26., 27. je 4 g, im ganzen 19 g. Das Befinden des Tieres während der Fütterung war durchaus normal.

Was die Ausscheidung des Jodes durch den Harn betrifft, so wurde folgendes festgestellt: Der 6 Stunden nach der ersten Fütterung durch den Katheter entleerte Harn gab mit H_2SO_4, KNO_2 und Chloroform nur ganz schwache Jodreaktion, die sich auffallenderweise beim Stehenlassen verstärkte. Auch bei den späteren Harnproben wurde diese Erscheinung beobachtet. Der nach 24 Stunden entleerte Harn gab, wie zu erwarten, eine ziemlich starke Jodreaktion. Bezüglich der Dauer der Ausscheidung ergab sich, daß der Harn am 31. X. vormittags und abends noch ziemlich starke Jodreaktion gab, am 1. XI. war die Reaktion nur noch schwach, am 2. XI. vormittags nicht mehr

zu konstatieren. Die Jodausscheidung war also 4 × 24 Stunden nach der letzten Zufuhr beendigt.

Der Kot, mitten aus dem Versuch entnommen, enthielt nachweisbar Jod und viel Eisen; mit der Quantität von 4 g pro Tag ist also bei dem Hunde die Assimilationsgrenze überschritten.

Während beim Kaninchen von 3260 g Körpergewicht bei einer Dosis von 1 g J-P-E. = 0,307 g pro Kilogramm kein Jod im Kot erschienen ist, war dies beim Hunde mit einer geringeren Dosis, nämlich 0,183 g pro Kilogramm, der Fall. Beim Menschen würde die Assimilationsgrenze für das Jod wahrscheinlich in der Mitte liegen.

Zur Orientierung über den Gehalt an organisch gebundenem Jod wurden 100 ccm des in der Nacht vom 26. zum 27. entleerten Harnes mit Salpetersäure angesäuert, mit Silbernitrat im Überschuß völlig ausgefällt, am nächsten Tage abfiltriert, das Filtrat mit H_2S entsilbert, das Filtrat, nachdem eine Probe mit negativem Ergebnis auf KJ geprüft war, mit Na_2CO_3 alkalisiert, eingedampft und unter Zusatz einer großen Quantität Salpetermischung verascht resp. geschmolzen. Die Schmelze wurde in 120 ccm Wasser gelöst; 20 ccm der Lösung, qualitativ geprüft, erwiesen sich ziemlich stark jodhaltig. Die colorimetrische Bestimmung ergab einen Jodgehalt von 6,656 mg[1]), für die ganze, rund 3 l betragende Harnmenge von 6 Tagen würden sich danach 0,250 g Jod in organischer Bindung ergeben.

Unter der Annahme, daß es sich auch hier wie in den Versuchen von Mosse und Neuberg (l. c.) um Jodhippursäure handelte, würden sich für diese in der ganzen Harnmenge 0,469 g ergeben. Der Versuch, die jodhaltige Substanz zu isolieren, erschien danach nicht ganz aussichtslos, dabei wurde von vornherein darauf gerechnet, daß dieselbe in Äther und, wenn nicht in diesen, in Essigäther übergehen würde.

Die Verarbeitung des Harns geschah ebenso wie beim Kaninchenharn. Der eingedampfte, in Wasser gelöste alkoholische Auszug wurde nach dem Ansäuern zuerst mit Äther, dann mit

[1]) Aus 20 ccm einer 2 mg KJ enthaltenden Lösung wurde das Jod durch H_2SO_4 und KNO_2 in Freiheit gesetzt und in 20 ccm Chloroform aufgenommen. Zur Erzielung gleicher Färbung von 20 ccm Chloroform wurden von der Lösung 27,6 ccm gebraucht.

Essigäther extrahiert. Die Extraktionsmittel wurden dreimal erneuert, jedesmal mehrere Stunden im Schüttelapparat geschüttelt. Die Reindarstellung gelang jedoch nicht, es hinterblieb schließlich eine sirupöse, in Wasser unlösliche Masse, die keine Neigung zur Krystallisation zeigte, und es konnte nur festgestellt werden, daß eine jodhaltige Säure der aromatischen Reihe vorlag (Nitrierbarkeit, charakteristischer Geruch beim Erhitzen des mit starker Salpetersäure und Eindampfen erhaltenen Rückstandes). Die Einzelheiten können übergangen werden, ich möchte nur bei dieser Gelegenheit auf eine bisher nicht beachtete Tatsache hinweisen, nämlich darauf, daß in den Ätherauszug aus Hundeharn stets sehr störende Fettsäuren übergehen. Dieselben stammen zum Teil wohl aus dem beim Katheterisieren des Hundes angewendeten Öl oder Fett, aber sie machen sich auch bemerklich, wenn der Harn im Käfig gesammelt ist. Man muß also den Ätherauszug entweder gar nicht benutzen, sondern nur den Essigätherauszug, oder die Fettsäuren beseitigen. Dies haben Mosse und Neuberg durch Behandlung mit Baryt erreicht, unter Umständen erweist sich auch die Fällung mit Kupfersulfat in der verdünnten neutralisierten Lösung zweckmäßig.

Ich möchte noch bemerken, daß auch Mosse und Neuberg die Reindarstellung der o-Jodhippursäure bzw. o-Jodbenzoesäure aus dem Harn von Hunden nach Fütterung mit Jodeigon nicht gelang, während an dem Vorhandensein derselben nicht gezweifelt werden konnte, da es ihnen gelang, aus dem Blute o-Jodbenzoesäure zu isolieren.

Fütterungsversuch 4.

Da im vorigen Versuche am Hunde die Resorptionsgrenze für das J-P-E. überschritten worden war, wurde der Versuch an demselben Hunde mit einer kleineren Dosis wiederholt. Gleichzeitig sollte ein etwaiger Einfluß des J-P-E. auf den Eiweißzerfall festgestellt werden.

Die Anordnung des Versuchs war folgende: Der Hund erhielt pro Tag 400 g Pferdefleisch mit ungefähr 13,2 bis 13,6 g N (gekocht), 50 g Speck und 30 g Reis. Da es von früheren Versuchen her feststand, daß dieser Hund sehr schwer, wenn überhaupt, vollständig in N-Gleichgewicht zu bringen war, wurde

auf die Erreichung des vollständigen N-Gleichgewichtes verzichtet und auch die N-Bestimmung in den Faeces nicht ausgeführt; da nur auf größere Ausschläge Gewicht gelegt wurde, konnte der N-Gehalt des J-P-E. unter diesen Umständen vernachlässigt werden.

Am 2. XII. 12 erhielt der Hund mit der Nahrung zur Abgrenzung des Kotes Kieselgur, am 3. und 4. je 1 g J-P-E., am 5. keins, am 6. und 7. je 2 g J-P-E. mit Kieselgur, am 8. kein J-P-E. Der Harn wurde regelmäßig durch den Katheter entleert, nur an den ersten Tagen hat der Hund etwas Harn in dem Käfig gelassen, der Kot war stets geformt.

Datum	Zugabe zum Futter	Harnmenge abgerundet	Prozentgehalt an Stickstoff	Stickstoffgehalt g
2. XII.	0	nicht bestimmt	nicht bestimmt	nicht bestimmt
3.	1 g J-P-E.	do.	do.	do.
4.	1 g J-P-E.	do.	do.	do.
5.	0	600	1,862	11,17
6.	2 g J-P-E.	700	1,642	11,41
7.	2 g J-P-E.	500	2,184	10,92
8.	0	600	1,890	11,34
9.	0	700	1,638	11,47
10.	0	500	2,436	12,18
11.	0	500	2,604	13,02

Von einem Einfluß auf den Eiweißzerfall kann demnach nicht gesprochen werden.

Was den Jodgehalt des Harnes betrifft, so war die Reaktion in dem Harn vom 9. bei direkter Anstellung nur noch schwach, bedeutend stärker in 10 ccm nach dem Eindampfen und Schmelzen des Rückstandes mit Salpetermischung, im Harn vom 10. Jod auch so nur spurenweise nachweisbar. Das stärkere Ausfallen der Reaktion nach dem Schmelzen mit Salpetermischung ist vermutlich nicht auf die Überführung des organisch gebundenen Jodes in Jodalkali zu beziehen, sondern auf die Zerstörung der organischen Substanz des Harnes überhaupt, die bei direkter Anstellung der Reaktion Jod binden. Es ist aber auch möglich, daß die Ausscheidung des organisch gebundenen Jodes länger dauert als die des anorganischen, ebenso wie ich dies bezüglich des Arsens nach Verfütterung von arsenparanucleinsaurem Eisen nachgewiesen habe[1]).

[1]) Diese Zeitschr. 18, 335.

Die Untersuchung des Kotes ergab folgendes:

Das Gewicht des auf dem Wasserbad getrockneten, dann gepulverten Kotes vom 3. und 4. XII. nach Eingabe von je 1 g J-P-E. betrug 19 g. 1 g wurde mit Salpetermischung geschmolzen; in der Lösung der Schmelze war nicht die geringste Spur Jod nachweisbar, ebenso nicht, als 1 g mit Kalihydrat geschmolzen wurde. Das Gewicht des ebenso getrockneten Kotes vom 6. und 7. nach je 2 g J-P-E. betrug 59 g, wovon etwa 40 g auf das in etwas zu reichlicher Quantität verabreichte Kieselgur zu beziehen sind. In 3 g des Kotes war gleichfalls weder durch die Salpeterschmelze noch durch die Kalischmelze auch nur eine Spur Jod nachweisbar. Die Assimilationsgrenze ist also mit 2 g J-P-E. bei einem Hunde von ca 21 kg = ca. 0,1 pro Kilogramm Körpergewicht noch nicht überschritten. Bei einem Menschen von 75 kg würde also auch bei Zufuhr von 7,5 g J-P-E. täglich vollständige Resorption des Jodes zu erwarten sein.

Zusammenfassung.

1. Durch die Einwirkung von Jod auf paranucleinsaures Eisen (Triferrin) entsteht eine, Jod in organischer Bindung enthaltende, Eisenverbindung mit einem Gehalt von rund 8 % Jod, der Kürze halber Jodtriferrin genannt.

2. Das Jodtriferrin verursacht bei Tieren keine erkennbaren Störungen.

3. Bei Einführung desselben per os wird das Jod selbst in hohen Dosen vollständig resorbiert, das Eisen nur zum Teil.

4. Der Eisengehalt der Leber steigt bei Fütterung damit auf das Dreifache.

5. Organisch gebundenes Jod hat sich bei Fütterung mit Jodtriferrin im Organismus nicht bestimmt nachweisen lassen.

6. Das Jod erscheint im Harn überwiegend als Alkalijodid, ein kleiner Teil als eine jodhaltige Säure der aromatischen Reihe.

7. Die Ausscheidung des Jodes überdauert die Einführung von jodparanucleinsaurem Eisen etwa 3 × 24 Stunden.

Diastase im Säuglingsharn.

Von

Ernst Mayer.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit.)

(Eingegangen am 26. Januar 1913.)

Da Unterschiede zwischen dem chemischen Verhalten des erwachsenen Organismus und des Säuglings nach verschiedenen Richtungen hin Interesse verdienen, möchte ich kurz über Beobachtungen berichten, die ich über den Diastasegehalt des Säuglingsharnes gemacht habe. Ich fand nämlich bei Säuglingen auffallend geringe Diastasewerte im Harn.

Während Cavazanni[1]) im foetalen Blute keine Diastase gefunden hatte, wiesen Wohlgemuth und Massone[2]) sie im Blute des Hunde- und Kaninchenfoetus und im menschlichen Nabelschnurblute nach. O. Loewi[3]) hat bei zwei Hundesäuglingen das Blutserum auf Diastase untersucht und 11,8 und 10,6 (im Mittel 11,2) Werte, in Traubenzucker ausgedrückt, gefunden, während er als Mittel bei sechs erwachsenen Hunden 18,0 fand. Loewi schreibt: „Deutlich, aber nicht verständlich ist der Einfluß der Altersperiode." Nach Hahn und Lust[4]) haben die meisten Autoren in den Faeces des Säuglings Diastase angetroffen; sie selbst haben sie in keinem Falle völlig vermißt. Ibrahim[5]) fand sie in den Speicheldrüsen und im Pankreas menschlicher Foeten und Neugeborener, meint aber, man müsse in Übereinstimmung mit älteren Angaben von Korowin[6]) und Zweifel[7]) eine gewisse Rückständigkeit der

---

[1]) Annali di chimica e farmacol. **1894**, zitiert nach Wohlgemuth, Biochem. Zeitschr. **9**.

[2]) Arch. f. Gynäkol. **94**, 1910.

[3]) Marburger Sitzungsber. **1904**, Nr. 8.

[4]) Monatsschr. f. Kinderheilk. **11**, Nr. 7, 1912.

[5]) Verhandl. d. 25. Versamml. d. Gesellsch. f. Kinderheilk. **1908**.

[6]) Jahrb. f. Kinderheilk. **8**, 1875, zitiert nach Ibrahim.

[7]) Untersuchungen über den Verdauungsapparat der Neugeborenen. Berlin 1874. Zitiert nach Ibrahim.

Pankreasdiastase beim Neugeborenen annehmen. „Steinitz[1]) untersuchte auf Diastase und Maltase. Schon ganz junge Kinder hatten diese Enzyme im Urin, jedoch nicht regelmäßig; bei akuten Ernährungsstörungen fand Steinitz erheblich höhere Fermentmengen, doch bestand kein Zusammenhang zwischen Schwere der Erkrankung und Fermentgehalt."

Tabelle.

Nr.	Alter	Diastase-Einheiten	Bemerkungen	Nr.	Alter	Diastase-Einheiten	Bemerkungen
1	6 Tage	2,5		34	7 Mon.	12,5	
2	8 „	5		35	7 „	2,5	
3	18 „	1,25		36	8 „	3,1	
4	3 Woch.	0	Albumen —	37	8 „	2,5	
5	5 „	0		38	8 „	mehr als 20	
6	5 „	1,25		39	8 „	10	
7	5 „	1,25		40	8 „	5	
8	6 „	2,5		41	8½ „	2,5	
9	8 „	0,62	Moribund	42	9 „	3,1	Derselbe Urin, an verschiedenen Tagen untersucht
10	10 „	2,5		43	9 „	12,5	
11	11 „	0		44	9 „	2,5	Extreme Atrophie
12	11 „	1,6		45	10 „	2,5	
13	12 „	2,5		46	11 „	5	
14	2½ Mon.	3,1		47	12 „	5	exsudative Diathese
15	3 „	0		48	13 „	25	
16	3 „	5		49	14 „	mehr als 20	
17	3½ „	2,5		50	1½ Jahr	5	Pneumonie
18	4 „	2,5		51	1½ „	mehr als 20	
19	4 „	1,25	Albumen, Spuren	52	1½ „	mehr als 20	
20	4 „	5		53	1½ „	10	
21	4 „	5		54	1½ „	0,625	Darmkatarrh, Rachitis
22	4 „	5		55	1¾ „	10	Epilepsie
23	4½ „	2,5		56	3 „	6,2	Nephritis
24	4½ „	5		57	3½ „	25	Albumen +
25	5 „	1,6		58	3¾ „	25	Albumen 1%
26	5 „	3,1		59	4 „	6,2	Nephritis
27	5 „	0	Albumen +	60	4 „	50	
28	5 „	2,5					
29	5 „	0,8	Atrophie				
30	5 „	2,5					
31	5 „	2,5					
32	5 „	5,0					
33	5½ „	2,5					

Die Urine wurden auf Diastase nach Wohlgemuth untersucht. Wenn möglich, wurde der 24stündige Urin gesammelt und zur Bestimmung benutzt. Der Urin war stets zuckerfrei; wenn sich Albumen fand, wurde es besonders vermerkt. 5 ccm wurden mit destilliertem Wasser auf 20 ccm verdünnt. Fallende Mengen des verdünnten Urins wurden

[1]) Freie Vereinig. f. wissenschaftl. Pädiatrie. Breslau 1908. Monatsschr. f. Kinderheilk. 1909.

in Reagensgläser gefüllt (3,2—2,4—1,6—0,8—0,4—0,2—0,1—0). Darauf wurden die Röhrchen auf 3,2 ccm aufgefüllt, je 5 ccm 1 ‰ iger löslicher Stärke, die mit Toluol versetzt war, zugefügt und für 24 Stunden im Brutschrank belassen. Darauf Zusatz einiger Tropfen $^{n}/_{10}$-Jodlösung. Schwache Violettfärbung wird noch als positiv, Rotfärbung (Erythrodextrin) als negativ bezeichnet. Das letzte schwach positive Röhrchen wird als Grenze genommen. Die Diastaseeinheiten wurden so berechnet, daß im Urin 100 Einheiten angenommen wurden, wenn 1 ccm unverdünnten Urins imstande war, 1 g Stärke zu zersetzen.

Da Vorversuche ergaben, daß der Diastasegehalt des Urins in weiten Grenzen vom Körpergewicht unabhängig ist, wurde darauf verzichtet, dasselbe in Betracht zu ziehen. Es wurde lediglich die Beziehung zwischen Alter und Diastaseausscheidung untersucht.

Die Tabelle lehrt, daß die Diastase bei nur wenigen Fällen im ersten Lebensvierteljahre völlig fehlt und bei den anderen sich unter 5 Einheiten hält. Im zweiten Vierteljahre werden auch 5 Einheiten nicht überschritten, im dritten schwanken die Werte zwischen 2,5 und mehr als 20. Später nehmen dann die höheren Werte zu. Aber wie bei Erwachsenen begegnet man auch hier bei pathologischen Komplikationen, insbesondere bei Nephritis, sehr geringen Werten. Zu bemerken ist, daß an verschiedenen Untersuchungstagen die Werte schwanken können (Nr. 42 und 43 von 3,1 bis 12,5).

Nach den Versuchen ist es als wahrscheinlich anzusehen, daß die Bildung, Absonderung, Resorption und Ausscheidung der Diastase durch die Ernährung beeinflußt wird. Es wäre wohl möglich, durch geeignete Ernährungsversuche bei Säuglingen diese Ansicht weiter zu stützen.

Über die spezifischen gerinnungshemmenden und blutdruckherabsetzenden Substanzen des weiblichen Genitalapparates.

Von

L. Popielski.

(Aus dem Institut für experimentelle Pharmakologie der Universität Lemberg.)

(Eingegangen am 23. Januar 1913.)

Im 34. Bande dieser Zeitschrift (1912) hat G. Schickele drei[1]) Arbeiten veröffentlicht, in denen er auf Grund der Wirkung von Extrakten aus dem Uterus, den Ovarien und der Placenta und der Säfte dieser Organe sich mit der inneren Sekretion beschäftigt. Nach Schickele verzögert der Saft der Eierstöcke und Gebärmutter die Gerinnung von Gänseplasma, das selbst mehrere Tage lang nicht gerinnt. Nach Zusatz von Uterus- oder Ovarialsaft gerinnt es nicht während einer Beobachtungszeit von 2×24 Stunden. Aus solchen Angaben läßt sich offenbar nicht der Schluß ziehen, daß dieser Saft die Gerinnung des Gänseplasmas verzögert. Es können daher nur die Versuche von Schickele in Betracht gezogen werden, in denen er das Gänseplasma mit Serum vermischte und verschiedene Mengen von Ovarial- oder Uterussaft zusetzte. Wenn das Plasma + Serum nach 17 Minuten gerann, so bewirkte Zusatz von Uterussaft in der gleichen Menge Gerinnung nach 6 Stunden 36 Minuten, Ovarialsaft nach 3×24 Stunden. In einigen Versuchen mit diesen tierischen Säften war die Blutgerinnung nur ganz unbedeutend verändert. So bewirkte in Tabelle XV Ovarialsaft in einer Menge von 3 Tropfen Gerinnung nach 26 Minuten und Uterussaft nach 56 Minuten, während in der Norm die Gerinnung nach 17 Minuten erfolgte. Unter den gleichen Bedingungen bewirken die Säfte aus der Thymus, der Thyroidea und der Nebenniere gleichfalls Verzögerung der Gerinnung in der Mischung von

[1]) Untersuchungen über die innere Sekretion der Ovarien. Diese Zeitschr. 34, S. 169 bis 213. — Zur Lehre von der inneren Sekretion der Placenta, l. c. S. 214 bis 225.

Gänseplasma + Serum, und zwar mehr oder weniger in demselben Verhältnisse. Wenn das Plasma + Serum nach 4 Minuten gerinnt (und nicht nach 17 Minuten wie im vorherigen Falle), so erhält man z. B. nach Zusatz von Thyreoideasaft Gerinnung nach 14 Stunden. Wenn wir die Norm von 4 Minuten auf 17 Minuten erhöhen, so erhalten wir die Gerinnungszeit $14 \times \frac{17}{4}$, d. i. $2^1/_2 \times 24$ Stunden. Es besteht also kein erheblicher Unterschied in der Wirkung von Säften anderer Organe gegenüber Uterus- und Ovarialsaft. Es ist demnach klar, daß bei den Versuchsbedingungen von Schickele auch andere Organe die Gerinnung der Plasma-Serummischung verzögern. Um vergleichbare Zahlen zu erhalten wäre es nötig gewesen, die Antithrombinkonzentration zu bestimmen und immer gleich frische Organe zu benutzen. Schickele stellt in seinen Versuchsbedingungen die Gegenwart von Antithrombin auch in anderen Organen fest und zieht trotzdem, ohne auf eine weitere Analyse einzugehen, den Schluß, daß es eine spezifische Absonderung der Eierstöcke, ein Hormon derselben sei. Wovon hängt diese Wirkung der Organsäfte auf die Veränderung der Gerinnung der Gänseplasma + Serummischung ab? Zweifellos steht sie in Verbindung mit der sauren Reaktion der von Schickele verwandten Extrakte, da nach Neutralisierung die Gerinnung viel rascher auftrat.

Schießlich kann die Mischung Plasma + Serum uns keinen Begriff von dem wirklichen Einfluß der Säfte auf das Blut selbst geben deswegen, weil die Säfte einen Einfluß ausüben können — vor allem auf das Serum selbst und dann erst auf das Plasma. Das ist wahrscheinlich auch der Fall, da Schickele selbst sagt, daß Trübungen und Fällungen auftreten. Deswegen kann nur die Wirkung möglichst frischer Säfte auf reines Blut entscheidende Bedeutung haben. Wenn man auf diese Weise die Wirkung sowohl der übrigen Organsäfte, wie solcher aus Uterus und Ovarien untersucht, so findet man, daß Hundeblut momentan gerinnt. Dieser Teil der Arbeit von Schickele gibt also keine Unterlagen für den Schluß, daß sich überhaupt in den Organen und speziell im Ovarial- oder Uterussaft Körper befinden, die in vitro die Blutgerinnung aufheben. In den obigen Arbeiten beschäftigt sich der Verfasser auch mit der Einwirkung von Uterus-, Ovarium- und Placentarextrakten auf den tierischen Organismus bei direkter Einführung in die Blutbahn. Dabei findet er Blutdrucksenkung, Aufhebung der Blutgerinnbarkeit und außerdem Veränderungen des Pulses und der Atmung; weiterhin spricht er von Speichel und Tränensekretion, Darmperistaltik und selbst Krämpfen. Die beobachteten Erscheinungen unterzieht er keiner physiologischen Analyse. So schreibt er über die Krämpfe: „In meinen Versuchen kamen sie so selten und unregelmäßig zur Beobachtung, daß ich ihren Zusammenhang mit der typischen Blutdruckerniedrigung für durchaus unsicher halte, daher auch nicht darauf eingehe.“

Endlich kommt Schickele zu dem Schluß, daß die depressorischen und die die Blutgerinnung hemmenden Eigenschaften der Ovarial- und Uterussäfte ausschließlich der Ausdruck der inneren Sekretion der Eier-

stöcke seien, aus denen diese Substanzen — Hormone — in die Gebärmutter gelängen und dort Hyperämie und periodische Schwellung verursachten, um sie zur Aufnahme des Eies zu befähigen (S. 211).

Daraus wäre zu folgern, daß Schickele wirklich Erscheinungen fand, die nur für die weiblichen Sexualorgane spezifisch sind. Dem ist jedoch nicht so. Ich habe mit meinen Mitarbeitern seit dem Jahre 1907[1]) die verschiedenen Organextrakte möglichst allseitig auf ihre physiologische und chemische Wirkung untersucht.

Aus diesen Untersuchungen[2]) ergab sich, daß die Auszüge aus allen Organen ohne Ausnahme bei der Injektion ins Blut das gleiche Wirkungsbild hervorrufen: Blutdrucksenkung, Aufhebung der Blutgerinnbarkeit, anfänglich Exzitation, dann Depression des Tieres, Kot- und Urinentleerung, Sekretion von Tränen, Speichel, Pankreas-, Magensaft, Milch und Galle, anfangs Hypo-, dann Hyperleukocytose. Diese Wirkungen wurden einer genauen physiologischen Analyse unterzogen mit dem Erfolge, daß sie auf zwei prinzipielle Wirkungen zurückgeführt werden konnten: nämlich die Blutdrucksenkung und Aufhebung der Blutgerinnbarkeit.

Es ist offenbar, daß sämtliche angeführten Erscheinungen gleichzeitig nur bei genügend großen Dosen auftreten, die eine erhebliche Blutdrucksenkung hervorrufen. Wenn man eine Injektion nach der anderen vornimmt, ohne die Rückkehr des Blutdruckes zur Norm abzuwarten, so erhält man immer tiefere Senkung, wie aus meinen bereits im Jahre 1907[3]) veröffentlichten Untersuchungen hervorgeht.

Wenn man nach einer starken und lange anhaltenden Blutdrucksenkung, wie sie nach großen Extraktdosen auftritt, die Rückkehr des Blutdruckes zur Norm abwartet und dann wieder dieselbe Dose injiziert, so erhält man weder Blutdrucksenkung noch die übrigen beschriebenen Erscheinungen. Es ist Immunisation erfolgt. Diese Tatsache beweist, daß das wirksame Agens der Extrakte nur ein einziger Körper ist. Diesen Schluß stützte auch die chemische Untersuchung, aus der hervorgeht, daß die Extrakte, den verschiedensten chemischen Eingriffen unterworfen, stets ein und dieselbe Wirkung haben. Durch Fällung mit

---

[1]) L. Popielski, Die Sekretionstätigkeit der Bauchspeicheldrüse unter dem Einfluß von Salzsäure und Darmextrakt. Arch. f. d. ges. Physiol. **120**, 451 bis 491, 1907. — Über den Charakter der Sekretionstätigkeit des Pankreas unter dem Einfluß von Salzsäure und Darmextrakt. Arch. f. d. ges. Physiol. **121**, 239 bis 264, 1908.

[2]) L. Popielski, Über die physiologische Wirkung von Extrakten aus sämtlichen Teilen des Verdauungskanals (Magen, Dick- und Dünndarm), sowie des Gehirns, Pankreas und Blutes und über chemische Eigenschaften des darin wirkenden Körpers. Arch. f. d. ges. Physiol. **128**, 191 bis 221, 1909.

[3]) L. Popielski, Über den Charakter der Sekretionstätigkeit. Arch. f. d. ges. Physiol. **121**, 249, 1908.

Phosphorwolframsäure, Extrahieren mit Alkohol, Behandeln mit Äther wird eine Substanz erhalten, die weder Albumose noch Pepton ist und schon in Dosen von 0,0003 pro Kilogramm Gewicht des Versuchstieres bei Hunden eine starke Blutdrucksenkung, Gerinnungsunfähigkeit des Blutes, Pankreassekretion usw. hervorruft, mit einem Worte das ganze Wirkungsbild der chemisch nicht weiter behandelten Extrakte. Diese Substanz habe ich Vasodilatin[1]) genannt. Die Wirkung auf die Blutgerinnbarkeit und den Blutdruck läßt sich durch chemische Behandlung nicht trennen, was darauf hinweist, daß diese beiden prinzipiellen Wirkungen von einem und demselben Körper abhängen.

Es zeigte sich weiterhin, daß die Aufhebung der Gerinnbarkeit des Blutes nicht unmittelbar vom Vasodilatin abhängt, sondern von einem neuen Körper[2]), der unter dem Einflusse des ersteren im Organismus entsteht, und zwar im Endothel der Blutgefäße, hauptsächlich der Leber und des Verdauungskanales. Es ist sehr möglich, daß unter normalen Verhältnissen das Endothel die Eigenschaft der Antithrombinbildung besitzt. Einige der Erscheinungen, die — wie gesagt — jeder Organextrakt ohne Ausnahme hervorruft, wurden in meinem Laboratorium einer speziellen Untersuchung unterzogen. So untersuchte Gizelt[3]) den Einfluß auf die Urinsekretion, Czubalski[4]) den auf die Blutgerinnung. Ferner waren einige Organe und Gewebe auch der Gegenstand besonderer Arbeiten. Die Wirkung von Blutextrakten untersuchte Studzinski[5]); derselbe untersuchte auch den Extrakt der Nebennieren und Hypophysis[6]) in bezug auf den Blutdruck und die Blutgerinnung.

Die Wirkung von Thyreoideaextrakt untersuchte Modrakowski[7]). Ferner war das Verhältnis der depressorischen Wirkung der Organextrakte zu Adrenalin und Bariumchlorid das Thema von speziellen Arbeiten von

---

[1]) L. Popielski und K. Panek, Chemische Untersuchungen über das Vasodilatin. Arch. f. d. ges. Physiol. **128**, 222, 1909.

[2]) L. Popielski, Die Ungerinnbarkeit des Blutes und Vasodilatin (Witte-Pepton). Bull. de l'Acad. Cracovie. Classe Meth. et Nat. Serie B. Nov. 1912.

[3]) A. Gizelt, Einfluß des Darmextraktes und Witte-Pepton auf die Harnsekretion. Arch. f. d. ges. Physiol. **123**, 540 bis 552.

[4]) F. Czubalski, Über den Einfluß des Darmextraktes auf die Blutgerinnbarkeit. Arch. f. d. ges. Physiol. **121**, 395 bis 403, 1908.

[5]) J. Studzinski, Über die giftigen Eigenschaften des Blutes. Centralbl. f. Physiol. **23**, Nr. 22.

[6]) Über die den Blutdruck herabsetzende Wirkung der Nebennieren. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 155 bis 160, 1911. Arch. Russky Wratsch **1910**, Nr. 18 u. 19.

[7]) G. Modrakowski, Über die Identität des blutdruckerzeugenden Körpers der Glandula thyreoidea mit dem Vasodilatin. Arch. f. d. ges. Physiol. **133**, 291, 1910.

Studzinski[1]) und mir[2]). Schließlich habe ich gezeigt, daß in allen Organen[3]) sich ein blutdruckerhöhender Körper befindet, den ich Vasohypertensin nannte. Dieser wirkt adrenalinähnlich. Bei Gegenwart von Vasodilatin kommt diese Wirkung nicht zur Geltung. Das Vasohypertensin befindet sich in Pituitrin, Pituglandol und anderen gegenwärtig in der Geburtshilfe angewandten Präparaten.

---

[1]) J. Studzinski, Über die den Blutdruck herabsetzende Wirkung der Nebennieren. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 65, 155. — Über die physiologische Wirkung von Extrakten der Hypophysis. Russky Wratsch 1911, Nr. 17, 18, 19.

[2]) L. Popielski, Über die Wirkungsweise des Chlorbariums, Adrenalins und Witte-Peptons auf den peripheren vasomotorischen Apparat. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Suppl.-Bd., Schmiedeberg-Festschrift, 1908, 435.

[3]) L. Popielski, Über eine neue blutdrucksteigernde Substanz des Organismus auf Grund von Untersuchungen von Extrakten der Glandula thymus, Speicheldrüsen, Pankreas und Gehirns. Centralbl. f. Physiol. 27, Nr. 5, S. 5.

Über synthetische Alkaloide aus Tyrosin, Tryptophan und Histidin.

Von

Julius Wellisch.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 20. Januar 1913.)

Seit langem schon vermuten die Pflanzenphysiologen, daß die sehr verschiedenartigen in den Pflanzen vorkommenden Alkaloide intermediäre Stoffwechselprodukte sind, die wahrscheinlich beim Auf- oder Abbaue der Eiweißkörper entstehen. Wenngleich bis jetzt noch lange nicht die Konstitution sämtlicher Pflanzenalkaloide festgestellt, beziehungsweise durch Synthesen erwiesen ist, so wissen wir doch, daß die meisten von ihnen Ringsysteme enthalten, die sich auf das Pyridin zurückführen lassen. Nur einige wenige leiten sich vom Imidazol ab.

Während das Imidazolringsystem im Eiweiß vorgebildet ist, und zwar im Histidin, und es ferner auch einen Teil des Purinringsystems bildet, das am Aufbaue der echten Nucleinsäuren der Zellkerne sich beteiligt, finden wir im Eiweiß wohl 3 Aminosäuren, die sich vom Pyrrol ableiten; Tryptophan, Prolin, Oxyprolin, keine einzige aber, die sich vom Pyridin ableitet. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß das Pyridinringsystem sich erst beim Abbaue der Aminosäuren durch Kondensation einer fetten Seitenkette unter Ringschluß bildet. Aus dem tierischen Stoffwechsel ist uns bekannt, daß ein Pyrrolderivat unter Zuhilfenahme eines Kohlenstoffes einer Seitenkette in ein Pyridinderivat übergeht, beziehungsweise bei dem der Übergang von Indol zu Chinolin erwiesen erscheint. Das ist die Bildung der Kynurensäure aus dem Tryptophan, aus dem Indolylalanin entsteht die γ-Oxychinolin-Carbonsäure.

```
     CH
CH ╱ C ___ CH—CH₂—CH—COOH           ╱╲ ___ CH—C—COOH
  |  ‖    |        |            →  |  ‖   |     |        →
CH ╲ C ╲╱ CH      NH₂              ╲╱ ╲╱ CH    H₂
     CH  N                              N

                  CH  C—OH
              CH ╱ C ╲ C—COOH
         →      |  ‖   |
              CH ╲ C ╱ CH
                  CH  N
```

Im Pflanzenreiche sind die Chinolinderivate, beziehungsweise Isochinolinderivate viel zahlreicher zu beobachten. Die meisten Alkaloide leiten sich von diesen heterocyclischen Systemen ab, aber es ist kaum anzunehmen, daß hier immer nur aus dem Tryptophan ein Chinolinringsystem entsteht; es wäre auch nicht zu erklären, warum wir so häufig das Isochinolin als Kernsytem vorfinden.

Eine andere Vorstellung war, daß die Alkaloide sich in der Weise von den Aminosäuren ableiten, daß die fette Kette der Aminosäuren, die Ringsysteme tragen, sich zu einem weiteren Ringschluß vereinigt. Nun leiten sich die 4 Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan und Histidin, sämtliche vom dreigliedrigen Alanin ab. Aus den Aminosäuren entstehen aber leicht unter der Einwirkung bestimmter Mikroorganismen oder Fermente Basen, wenn man die Carboxylgruppe abspaltet. Die Alaninseitenkette geht hierbei in eine Äthylaminseitenkette über. Solche Substanzen sind nun leicht befähigt, unter Einwirkung von Formaldehyd oder Ameisensäure sich zu einem Pyridinderivat zusammenzuschließen.

Bei Betrachtung einzelner Alkaloide kann man sich vorstellen, daß der Isochinolinringschluß durch Einwirkung einer Aldehydgruppe am Phenol in vizinaler Stellung auf die Aminogruppe einer mehrgliedrigen Kohlenstoffseitenkette zustande kommt, so z. B. beim Hydrochinin

```
            CH₂                                   CH₂
      O ╱╲ ╱╲ CH₂                           O ╱╲ ╱╲ CH₂
CH₂ <    |  |  NH.CH₂   und Kotarnin  CH₂ <    |  |  NH.CH₂
      O ╲╱ ╲ CHO                            O ╲╱ ╲ CHO
                                               O
                                              CH₃
```

C. Neuberg[1]) denkt an die Reduktion der Carboxylgruppe der Aminosäuren zur Aldehydgruppe und Kondensation mit einer Aminogruppe. Diese Erklärungsweise ist für Pyrazinsysteme plausibel.

Experimentell versuchten Amé Pictet und Theodor Spengler, Phenylalanin und Tyrosin mit Formaldehyd zu alkaloidischen Substanzen zu kondensieren[2]).

Die Möglichkeit solcher Synthesen in der Pflanze ist durchaus nicht von der Hand zu weisen, da sowohl Aminosäuren als enzymatische Zerfallsprodukte in den Pflanzen zu beobachten sind, als auch Formaldehyd, von dem man schon lange nach der Baeyerschen Assimilationshypothese vermutet, daß es sich im Chlorophyll durch Reduktion der Kohlensäure bildet. In jüngster Zeit haben sowohl Viktor Grafe[3]) als auch Theodor Curtius und Carl Franzen[4]) das Vorkommen von Formaldehyd in den Blättern einwandfrei nachgewiesen.

Wir sehen also, daß eigentlich zwei Möglichkeiten existieren, wie aus den Aminosäuren der Eiweißkörper Alkaloide entstehen können; abgesehen davon, daß wirksame Alkaloide aus den Aminosäuren schon durch bloße Abspaltung der Carboxylgruppe entstehen, ist einerseits eine Möglichkeit der Umwandlung des Indolringsystems in Chinolin gegeben, andererseits der Ringschluß der Äthylamingruppe unter Einwirkung von Formaldehyd zum Pyridin, beziehungsweise bei den Benzolderivaten zum Isochinolin.

Im Eiweißmolekül wurden bis jetzt 7 cyclische Aminosäuren gefunden, von denen 3 Benzolderivate (Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan), 3 Pyrrolderivate (Prolin, Oxyprolin, Tryptophan) und eines 1 Diazin beziehungsweise Imidazolderivat (Histidin) sind.

Die beiden von Amé Pictet und Theodor Spengler zu ihren Versuchen benutzten Substanzen gehören dem Benzolringsystem an.

Sie gingen von der Methode von Bischler-Napieralski,

---

[1]) Diese Zeitschr. **20**, 450, 1909; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **41**, 956, 1908.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 2030, 1911.

[3]) Diese Zeitschr. **32**, 114, 1911.

[4]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 1715, 1912.

bzw. Pictet-Gams aus, die durch Einwirkung von organischen Säuren auf Phenyläthylamin, bzw. substituierte Phenyläthylamine zu Isochinolinen kamen;

$$C_6H_4\begin{cases}CH_2\\CH_2\\NH_2\end{cases} + R.COOH = C_6H_4\begin{cases}CH_2\\CH_2\\N\\CR\end{cases} + 2H_2O$$

$$C_6H_4\begin{cases}CH.OH\\CH_2\\NH_2\end{cases} + R.COOH = C_6H_4\begin{cases}CH\\CH\\N\\CR\end{cases} + 3H_2O$$

und zwar ersetzten sie die Säure durch den Aldehyd und gelangten sogleich zu tetrahydrierten Produkten, ersparten also die eventuell nachfolgende Hydrierung, die überdies sehr schwierig durchzuführen ist und sehr schlechte Ausbeuten liefert.

$$C_6H_4\begin{cases}CH\\CH_2\\NH_2\end{cases} + RCHO = C_6H_4\begin{cases}CH_2\\CH_2\\NH\\CHR\end{cases} + H_2O$$

So erhielten sie aus Phenylalanin und Formaldehyd Tetrahydroisochinolin-Carbonsäure, aus α-p-Oxyphenylalanin (Tyrosin) p-Oxytetrahydroisochinolin-Carbonsäure [1]).

Aus jeder α-Aminosäure kann, wie erwähnt, eine um ein Kohlenstoff ärmere Aminobase erhalten werden, wenn man Kohlensäure abspaltet.

$$\underset{\displaystyle COOH}{R{-}\overset{}{CH}{-}NH_2} = R{-}CH_2{-}NH_2 + CO_2$$

Barger und Dale haben in Ergotin nun eine Reihe von Aminobasen nachgewiesen, die sich in der besprochenen Weise von den α-Aminosäuren des Eiweißes ableiten und von denen die cyclischen an der bekannten Wirkung des Mutterkornes beteiligt sind. Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan und Histidin sind alle Alaninderivate mit in der β-Stellung substituierten Ringsystemen. Die entsprechenden Basen sind daher β-Äthylaminderivate.

---

[1]) Berl. Ber. **44**, 2031 bis 2035, 1911.

Allen aromatischen Basen, die sich von den im Eiweiß vorkommenden Aminosäuren in der Weise ableiten, daß die Gruppe COOH fehlt, kommen starke Wirkungen auf den Blutdruck und auf die Arteriencontraction zu.

Während die Aminosäuren physiologisch unwirksam sind und im Organismus völlig in Kohlensäure, Harnstoff und Wasser zerlegt werden, sind ihre Ester, die basischere Eigenschaften haben, schon wirksam.

So ist Tyrosin physiologisch unwirksam, während der salzsaure Tyrosin-Äthylester für Kaninchen schon giftig ist[1]).

Vom Tyrosin kommt man durch Kohlensäurespaltung zum p-Oxyphenyläthylamin, das blutdrucksteigernd wirkt und bereits synthetisch auf verschiedene Weise, hauptsächlich durch Reduktion von p-Oxybenzylcyanid dargestellt wird[2]).

$$C_6H_5.CH_2.Cl + KCN = C_6H_5.CH_2.CN + KCl$$

$$C_6H_5.CH_2.CN + OH.NO_2 = C_6H_4\begin{cases} NO_2 \\ CH_2.CN \end{cases} + H_2O$$

$$NO_2.C_6H_4.CH_2.CN + 3H_2 = NH_2.C_6H_4.CH_2.CN + 2H_2O$$

$$NH_2.C_6H_4.CH_2.CN + OH.NO = OH.N = NC_6H_4CH_2.CN + H_2O$$

$$OHN = N{-}C_6H_4.CH_2.CN = OH.C_6H_4.CH_2.CN + N_2$$

$$OH.C_6H_4.CH_2.CN + 2H_2 = OH.C_6H_4.CH_2.CH_2.NH_2$$

Über die physiologische Wirkung der aus diesen Körpern durch Ringschluß mit Formaldehyd erhaltenen Isochinolinderivate liegen leider keine Versuche vor.

Unser Arbeitsplan war, aus den Aminosäuren neue Ringsysteme aufzubauen, die Kuppelungen von Benzopyrrol mit Piperidin und Imidazol mit Piperidin vorstellen. Außerdem waren für uns Kondensationsprodukte, die sich vom natürlichen optisch-aktiven Tyrosin und dessen Umwandlungsprodukt, dem aktiven Adrenalin, ableiten, von Interesse.

Wir versuchten zunächst, die zwei Aminosäuren, die als Ringsystem Imidazol bzw. Benzopyrrol tragen und am Aufbau des Eiweißmoleküls beteiligt sind, mit Aldehyden zu kondensieren.

Es sei gleich einiges über die Wirksamkeit der Ausgangskörper gesagt:

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**, 189, 1890.

2) R. Pschorr, O. Wolfes, W. Bukow, Berl. Ber. **33**, 170, 1900.

Histidin und Tryptophan sind noch unwirksam; die daraus durch Kohlensäurespaltung entstehenden Basen sind jedoch wirksam. β-Imidazoläthylamin (aus Histidin) wirkt reizend auf die glatten Muskeln, und am empfindlichsten ist der glatte Uterusmuskel[1]).

β-Indolyläthylamin (aus Tryptophan) erhöht sehr rasch den Blutdruck[2]).

Adrenalin ist das wirksamste unter den bis jetzt bekannten Aminen und bewirkt bei intravenöser Injektion Blutdrucksteigerung. Es bildet sich im Organismus aus Tyrosin[3]).

Das β-Imidazoläthylamin wurde synthetisch hergestellt, ist aber wegen seines hohen Preises noch nicht sehr in Verwendung gekommen. Das β-Indolyläthylamin wurde auch nur mit praktisch nicht in Betracht kommenden Ausbeuten synthetisch dargestellt (aus Amino-Butyr-Acetal- und Phenylhydrazin)[4]).

$$C_6H_5\text{—}NH\text{—}NH_2 + \begin{matrix} CH_2\text{—}CH_2\text{—}CH_2\text{—}NH_2 \\ | \\ CH(OC_2H_5)_2 \end{matrix} =$$

$$= C_6H_4\begin{matrix} \text{—C—}CH_2\text{—}CH_2\text{—}NH_2 \\ \| \\ NH \end{matrix} + NH_3 + 2C_2H_5.OH$$

Adrenalin wird synthetisch auf verschiedene Weise hergestellt:

$$(OH)_2C_6H_3\text{—}CH(OH).CH_2.NH.CH_3$$

Wir wählten, da die Basen also noch schwer zugänglich sind, die Aminosäuren selbst: das Histidin (Imidazolylalanin) und das Tryptophan (Indolylalanin). War der Ringschluß vollzogen, so konnte man noch immer durch Abspaltung oder Veresterung der Carboxylgruppe zu wirksamen Substanzen gelangen.

Es ist nämlich schon bekannt, daß die Intensität der Wirkung und die Giftigkeit mit dem Eintritt der veresterten Carboxylgruppe steigt.

---

[1]) H. H. Dale, Journ. of Physiol. **41**, 310, 1910.

[2]) P. P. Laidlaw bei A. J. Ewins, Transact. of the chem. Soc. **19**, 271, 1911.

[3]) Halle, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol.

[4]) A. J. Ewins, Transact. of the chem. Soc. **6**, 270, 1911.

So unterscheiden sich Tropacocain und Cocain nur durch die An- resp. Abwesenheit der Carboxymethylgruppe, durch deren Eintritt Cocain dem Tropacocain in der Wirkung sehr überlegen wird.

```
CH2—CH — CH.COO.CH3
 |    |    |
 |    N.CH3CH.O.CO.C6H5
 |    |    |
CH2—CH — CH2
```

Cocain[1]).

```
CH2—CH — CH2
 |    |    |
 |    N.CH3CH.O.CO.C6H5
 |    |    |
CH2—CH — CH2
```

Tropacocain.

Ebenso sind die Alkamincarbonsäurederivate, die verestert wurden, zwei- bis dreimal toxischer als die Alkaminderivate, die diese Carboxylgruppe nicht enthalten[2]).

Bei der Kondensation von Histidin mit Methylenglykol, das das Formaldehyd abspaltende Agens ist, und bei Gegenwart von konzentrierter Salzsäure erhielten wir das Bichlorhydrat der Imidazol-tetrahydropyridin-Carbonsäure.

```
                                                         CH2
                                                       C/  \
N——C—CH2.CH.COOH                             N——C      CH.COOH
|   |        |        + H.CHO =              |   |      |          + H2O
CH\ /CH     NH2                              CH\ /C\   /NH
   NH                                           NH  CH2

                                   CH2
                                 C/  \
                           NH——C      CH.COOH
                   oder    |   |       |
                           CH\ /C\    /NH
                              N   CH2
```

Das zugrunde liegende Ringsystem ist als Imidazolisopiperidin aufzufassen.

Nunmehr versuchten wir die Seitenkette abzuspalten, bzw. die Carboxylgruppe zu verestern.

Die Kohlensäurespaltung gelingt durch bloßes Erhitzen im Vakuum.

Es resultiert ein mikrokrystallinischer Körper.

---

[1]) Berl. Ber. 31, 1534, 2498, 2655, 1899; 32, 1635, 1900.

[2]) S. Fränkel, Arzneimittelsynthese, 3. Aufl., S. 361, 367.

Die Substanz läßt sich in üblicher Weise gar nicht, über das Silbersalz nur schwierig verestern. Wir erhielten schließlich ein Öl, das nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte und deshalb als Pikrat analysiert wurde.

Das für die Versuche verwendete Tryptophan war optisch aktiv und nicht racemisch, wie das von R. Allers in unserem Institut dargestellte[1]).

Tryptophan ist sehr labil und kann mit konzentrierter Salzsäure nicht behandelt werden, da es mit Leichtigkeit in Farbstoffe übergeht. Wir versetzten daher die Substanz mit überschüssigem Methylal und verwendeten Essigsäureanhydrid als Kondensationsmittel. Es resultiert ein in Alkohol lösliches Öl, das wegen seiner Unlöslichkeit in allen anderen Lösungsmitteln mit wässerigem Alkali aufgenommen wird. Das Alkalisalz der Säure wird mit Schwefelsäure gefällt, und da der Niederschlag in allen Solventien unlöslich ist, wird die Operation des Lösens und Fällens wiederholt und die Substanz, die ein Pulver darstellt, analysiert. Die Analyse lieferte aber keine berechenbaren Werte, da anscheinend kein einheitlicher Körper vorliegt.

Wie wir aus Versuchen von Annie Homer[2]) ersehen, erhielt sie durch Kondensation von Formaldehyd mit Tryptophan direkt Verbindungen von der Zusammensetzung $C_{12}H_{12}N_2O_2 + 2\,H_2O$, die sich sehr leicht durch Erwärmen oder durch Hydrolysieren verändern, was obige Annahme bestätigen würde.

Weiterhin kondensierten wir optisch aktives, und zwar l-Tyrosin, während in einem analogen Versuche Pictet[3]) racemisches Tyrosin verwendet. Man gelangt zur p-Oxy-tetrahydroisochinolin-Carbonsäure.

Die Substanz unterscheidet sich wesentlich im Schmelzpunkte von der Substanz von Pictet, die aus racemischem Tyrosin dargestellt war.

$$\underset{OH}{C_6H_4}\text{—}CH_2\text{—}\underset{NH_2}{CH}.COOH + H.CHO = \underset{OH}{C_6H_3}\langle CH_2\text{—}CH.COOH,\ CH_2\text{—}NH\rangle + H_2O$$

[1]) Diese Zeitschr. 6, 272, 1907.
[2]) Chem. Centralbl. 1, Nr. 20, 1912.
[3]) Berl. Ber. 44, 2030 bis 2040, 1911.

Aus der so gewonnenen Carbonsäure versuchten wir, durch Kohlensäurespaltung zur Base zu gelangen. Wir erhielten aber bloß ein Anhydrid, und ein noch stärkeres Erhitzen führte zur Aufspaltung des Ringes.

```
          CO-O-CO
    CH2 /        \   CH2
      CH          CH
OH    NH          NH    OH
      CH2         CH2
```

Die Veresterung mit Methylalkohol führte zu einem gelben mikrokrystallinischen Körper dem p-Oxy-tetrahydroisochinolin-Carbonsäuremethylester.

Es war nun naheliegend, an Stelle des Formaldehyds andere Aldehyde zu verwenden.

Wir griffen daher zu dem nächst höheren, dem Acetaldehyd. Die Versuche, denselben mit Histidin und Salzsäure in gleicher Weise zu kondensieren, schlugen aber fehl. Die Reaktion ging entweder überhaupt nicht an, oder so heftig, daß alles verharzte. Der Ersatz der Salzsäure durch Brom- oder Jodwasserstoffsäure lieferte auch keine besseren Resultate.

Ganz ähnliche Versuche, Histidin mit einer Ketosäure (Brenztraubensäure) zu kondensieren, verliefen ebenfalls negativ. Nur ging die Reaktion im Gegensatz zur Acetaldehydsynthese, die viel zu energisch verlief, überhaupt nicht an, sondern lieferte den Ausgangskörper zurück.

Soweit unsere bisherigen Kenntnisse reichen, kommen in der Natur bloß 3 Alkaloide vor, die Imidazolabkömmlinge sind: das aus dem Secale von Barger und Dale isolierte Imidazolyläthylamin, das in den Blättern von Pilocarpus pennatifolius enthaltene Pilocarpin ($C_{11}H_{16}N_2O_2$) und das aus dem Mutterkorn isolierte Ergothionein ($C_9H_{15}O_2N_3S$), das von Barger und Ewins als Thioglyoxalin-Propiobetain erkannt wurde[1]).

Wir haben nunmehr einen Körper synthetisch hergestellt, der in der Natur bisher nicht beobachtet wurde und die Kombination eines Imidazolringes mit einem Piperidinring ist.

---

[1]) Chem. Centralbl. 1, 580, 1912.

Wir schlagen dafür folgende Bezeichnung vor:

```
     (n)   CH₂
     NH   /  \
    / 1\C/ 7  \CH.COOH
   /    8|    6|
(μ)CH< 2 Im. | Py. |        1—2—3 Im—4—5—6—7—8—9 Py.
   \    9|    5|NH
    \ 3/C\ 4  /
     N    \  /
           CH₂
```

Die Substanz sowohl als auch ihre Derivate sind optisch aktiv. Weiter gelang uns, eine aktive l-Oxy-tetrahydroisochinolin-Carbonsäure und einige Derivate derselben herzustellen. Die physiologische Wirksamkeit all dieser Körper ist noch zu prüfen.

Aus diesen Versuchen ist leicht zu ersehen, daß die Idee, als ob die Alkaloide in den Pflanzen durch Kondensation der Aminosäuren, resp. der sich von ihnen ableitenden Äthylaminbasen mit Formaldehyd nur insofern als richtig oder erwiesen erscheint, als man hierbei von Phenylalanin oder Tyrosin aus zu Isochinolinderivaten gelangt. Die Einwirkung auf Histidin führte, wie theoretisch zu erwarten war, zu einem neuen Ringsystem, das bis jetzt in der Natur nicht beobachtet wurde; ebenso kennen wir in der Natur kein Ringsystem, das dem aus Trytophan und Formaldehyd bei richtiger Kondensation zu erwartenden entsprechen würde. Dieses Ringsystem wäre eine Kombination des Benzopyrrols mit Piperidin, also ein Indol-Isopiperidin.

Die Entstehung des Chinolinringsystems aus dem Tryptophan ist durch das Entstehen der Kynurensäure aus dem Tryptophan im tierischen Organismus ziemlich erklärlich.

Die Vorgänge in der Natur bei der Bildung der Alkaloide erscheinen viel komplizierter und verschiedenartiger, als daß man sie alle auf diesen sehr einfachen Mechanismus zurückführen könnte.

Experimenteller Teil.

Histidin wurde nach dem von S. Fränkel beschriebenen Verfahren mit den üblichen Modifikationen dargestellt.

Darstellung von Imidazol-Tetrahydropiridin-Carbonsäure.

7 g Histidinchlorhydrat wurden mit 30 g konzentrierter Salzsäure versetzt und unter Verwendung eines Rückflußkühlers am Wasserbade erwärmt. Dann ließen wir aus einem Tropf-

trichter nach und nach 5 g Methylal zufließen und erwärmten 6 bis 8 Stunden bei schwachem Sieden. Wir dampften die so entstandene klare Lösung zur Verjagung der Hauptmenge der Salzsäure 2 bis 3 mal zur Staubtrockne ein. Der Rückstand ist schon in sehr wenig heißem Wasser löslich und aus der konzentrierten Lösung krystallisiert ein weißer Körper aus, der durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt wird. Rascher kommt man zum Ziele, wenn man den Sirup mit den Krystallen, der sich nach dem Eindampfen der Lösung ergibt, auf einen Tonteller aufstreicht. Es genügt dann ein einmaliges Umkrystallisieren.

Die maximale Ausbeute der Reaktion beträgt 75 % der Theorie.

Das Imidazol-(Iso-)Piperidin-Carbonsäure-Chlorhydrat zersetzt sich unter Schäumen und Bräunen hei 276° (korrigiert bei 278 bis 279°: bestimmt auf Bloc Maquenne). Die aus Wasser erhaltenen Krystalle gehören dem 2 achsigen System an, und zwar dem rhombischen. Sie sind in Wasser sehr leicht löslich, in Äther, Alkohol- Methylalkohol unlöslich.

Die Substanz wurde zur Analyse bei 110° getrocknet und erwies sich krystallwasserfrei.

Analyse.

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung:

0,1879 g Substanz gaben 0,2424 g Kohlensäure = 35,21 % C
0,1879 g " " 0,0767 g Wasser = 4,58 % H
0,1679 g " " 0,2160 g Kohlensäure = 35,08 % C
0,1679 g " " 0,0746 g Wasser = 4,72 % H

Stickstoffbestimmung nach Dumas:

0,1090 g Substanz gaben bei T = 16° und B = 745 mm = 16,5 ccm N
das entspricht . . . . = 17,53 % N
0,1235 g Substanz gaben bei T = 19° und B = 743 mm = 18,98 ccm N
das entspricht . . . . = 17,56 % N

Chlorbestimmung (durch direkte Fällung der in Wasser gelösten Substanz):

0,0853 g Substanz gaben 0,1007 g Cl — Ag = 29,26 % Cl
0,1070 g " " 0,1270 g Cl — Ag = 29,41 % Cl

Berechnet für $C_7H_9N_3O_2 . 2\,HCl$:	Gefunden: I	Gefunden: II
C . . . . . . 35,00 %	35,21 %	35,08 %
H . . . . . . 4,58 %	4,58 %	4,72 %
N . . . . . . 17,50 %	17,53 %	17,56 %
Cl . . . . . . 29,58 %	29,26 %	29,41 %

Konstitutionsformeln:

NH CH_2 C CH.COOH CH NH C N CH_2 .2HCl oder N CH_2 C CH.COOH CH NH C NH CH_2 .2HCl

da es nicht bestimmt ist an welchem C-Atom die Alaninkette steht.

Mit in verdünntem Alkohol gelöstem pikrinsauren Natrium findet erst nach längerem Stehen Umsetzung statt, und es bildet sich ein in schönen, riesig langen Nadeln krystallisiertes, hellgelbes Pikrat vom Sinterungspunkt (unscharf) 205° und Zersetzungspunkt (unscharf) 215° (bestimmt auf Bloc Maquenne). Die Krystalle zeigen kein Farbenspiel.

Analyse des Pikrates.

Stickstoff nach Dumas:

Die Substanz wurde bei 100° getrocknet und enthält kein Krystallwasser.

0,1023 g Substanz ergaben T = 24° und B = 746 mm 19,16 ccm N
das entspricht . . . . 21,13 % N

Berechnet für $C_7H_9N_3O_2 . C_6H_2(NO_2)_3OH$:	Gefunden:
N: 21,21 %	21,13 %

Mit in Alkohol gelöster Pikrolonsäure entsteht erst nach längerem Stehen ein Pikrolonat, das nicht weiter untersucht wurde.

Polarisation.

Sie wurde nach E. Fischer[1]) durch Mikropolarisation durchgeführt unter gleichzeitiger Verwendung eines monochromatischen Beleuchtungsspektroskops mit Nernstlampe von Schmidt & Haensch und mit dem großen Landolt-Lippichschen Apparate.

0,0518 g Substanz wurden in 0,5332 g Wasser gelöst und ergaben im 0,1 ccm-Capillarrohr einen Drehungswinkel von 8,18° nach links. Daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{25^\circ} = -84,24^\circ\ (\pm 0,02^\circ).$$

1) Berl. Ber. 44, 129, 1911.

Darstellung von Imidazol-(Iso-)Piperidin.

Vorversuch.

Imidazol-Iso-Piperidin-Carbonsäure wurde im Vakuum erhitzt. Als die Masse zu schäumen und bräunen begann, trübte sich vorgelegtes Barytwasser durch die abgespaltene Kohlensäure. Der Rückstand wurde in heißem Wasser gelöst und vom Unlöslichen (verkohlten) abfiltriert; aber die Lösung krystallisierte nicht an, sondern es hinterblieb ein Öl. Durch Alkohol fand keine Fällung statt; mit wässeriger Pikrinsäure oder alkoholischer Pikrolonsäure entstand ein Pikrat bzw. Pikrolonat, aber beide bloß in Form von amorphen Fällungen. Auch Goldchlorid, Platinchlorid sowie Sublimatlösungen bewirken Fällungen, es scheiden sich jedoch keine krystallisierten Körper aus. Daher wurde die alkoholische Lösung des Öles mit Sublimatlösung gefällt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zersetzt, vom Quecksilbersulfid filtriert und das Filtrat eingedampft. Dieses krystallisierte schließlich an, während das ursprüngliche Öl noch nicht zur Krystallisation zu bringen war. Die Krystalle konnten nicht analysiert werden infolge der gar zu schlechten Ausbeuten der pyrogenen Reaktion.

Der Versuch mußte daher nochmals wiederholt werden und zur Erzielung besserer Ausbeuten ein Erhitzen bei 29 mm Vakuum im Glycerinbade auf 290° vorgenommen werden. Die festgebackene, den Kolben vollkommen füllende, in Wasser fast glatt lösliche Masse wurde nach dem Filtrieren mit absolutem Alkohol versetzt. Nach dem Einengen der wässerig alkoholischen Lösung fand die Abscheidung eines mikrokrystallinischen Körpers von starkem Lichtbrechungsvermögen und Zersetzungspunkt 258° statt.

Die eingeengte Mutterlauge ergab in wässeriger Lösung mit wässeriger Pikrinsäure eine Fällung. Dieses so entstandene Pikrat wurde aus Wasser umkrystallisiert, ist mikrokrystallinisch und zersetzt sich bei 150 bis 152°.

Der Körper vom Zersetzungspunkte 258° ist chlorhaltig und wurde zur Analyse im Vakuum getrocknet.

Stickstoff nach Dumas:

0,0862 g Substanz gaben bei T = 17° und B = 741 mm 14,96 ccm N
das entspricht . . . . 19,92 % N

Berechnet für $C_6H_9N_3O \cdot 2HCl$:	Gefunden:
N: 19,81 %	19,92 %

Das Pikrat wurde, da nur wenig vorhanden war, nicht analysiert.

$$CH\langle N, C, NH, C \rangle \; CH_2, CH\cdot COOH, NH, CH_2 \; .2HCl \longrightarrow CO_2 + CH\langle N, C, NH, C \rangle \; CH_2, CH_2, NH, CH_2 \; .2HCl$$

Darstellung des Imidazol-(Iso-)Piperidin-Carbonsäureäthyl-(methyl-)esters.

Versuch 1.

2 g Imidazol-Piperidin-Carbonsäurechlorhydrat wurden fein pulverisiert, in 10 g absolutem Methylalkohol suspendiert und dann ein trockener Salzsäuregasstrom unter Eiskühlung durch 2 Stunden eingeleitet. Wir versuchten das Gemisch auf Eis umzugießen, ob hier nicht vielleicht ein Auskrystallisieren erfolge; aber es fand bloß Lösung statt. Diese Lösung wurde im Vakuum destilliert, wobei Salzsäure und Methylalkohol überging, und es blieb ein weißer Körper zurück, der sich als unverändertes Ausgangsmaterial erwies.

Versuch 2.

2 g Imidazol-Piperidin-Carbonsäurechlorhydrat wurden in 20 g absolutem Methylalkohol suspendiert und zum Sieden erhitzt. Hierauf leiteten wir durch 4 Stunden in die schwach siedende Lösung einen trockenen Salzsäurestrom ein. Es fand nur teilweise Lösung des Niederschlages statt. Wir trennten die beiden Anteile, da ein Filtrieren infolge der konzentrierten Salzsäure unmöglich war, durch Zentrifugieren, dampften die methylalkoholische Lösung im Vakuum ein und lösten den unlöslichen Körper in Wasser. Beide Teile ergaben wieder den Ausgangskörper, wie durch Umkrystallisieren und Schmelzpunktbestimmung festgestellt wurde.

Versuch 3.

Wir versuchten auch die Veresterung mit absolutem, durch Natrium getrockneten Äthylalkohol und trockener Salzsäure, destillierten den Alkohol im Vakuum ab und veresterten den Rückstand in gleicher Weise nach. Diesmal krystallisierten wir aus Alkohol um und führten zur Vorsicht eine Äthoxyl-

bestimmung nach Zeisel durch, die aber gar keine Trübung des alkoholischen Silbernitrats ergab, womit einwandfrei bewiesen war, daß die Veresterung auf diese Weise nicht geht.

Es muß also entweder sehr leicht ein Zerfall des gebildeten Esters stattfinden oder eine sterische Hinderung für die Veresterung vorliegen.

Versuch 4.

Nunmehr veresterten wir das Silbersalz der Imidazol-Piperidin-Carbonsäure mit Äthyljodid.

Herstellung des Silbersalzes:

Wir versetzten 2 g der wässerigen Lösung des Imidazol-Piperidin-Carbonsäurechlorhydrates mit 7,5 g frisch hergestelltem Silbercarbonat und schüttelten in einer dickwandigen Flasche durch mehrere Stunden, wobei sowohl Chlorsilber als auch das gewünschte Silbersalz ausfielen. Das in geringen Mengen isolierte Silbersalz ist amorph, schwärzt sich am Licht und zersetzt sich bei 175°.

Wegen der schwierigen Löslichkeit dieses Silbersalzes wurde die Hauptmasse desselben gar nicht isoliert, sondern in das Gemisch von diesem und Chlorsilber Äthyljodid im Überschuß eingetragen und 6 Stunden kräftig geschüttelt. Wir filtrierten vom entstandenen Niederschlag ab, kochten diesen zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol aus und leiteten, da dabei auch etwas Silber in Lösung geht, in das Gesamtfiltrat Schwefelwasserstoff ein. Die nach dem Entfernen des Silbersulfids erhaltene Lösung wurde im Vakuum eingeengt, krystallisierte aber weder beim Anreiben noch in einer Kältemischung aus. Das resultierende Öl war in Wasser, Alkohol, Äther löslich, reagierte stark alkalisch, fiel aber beim Neutralisieren mit $^n/_{10}$-Schwefelsäure oder Salzsäure nicht aus und gab mit Oxalsäure, Chromsäure oder Citronensäure keinerlei Krystalle. Ein mit Platinchlorid entstehendes Platinat ist sehr schlecht krystallisiert, daher versetzten wir die wässerige Lösung des Öles mit wässeriger Pikrinsäure. Nach längerem Stehen im Eiskasten krystallisierte ein Pikrat an, das beim Umkrystallisieren aus Wasser kurze tafelförmige, orangegelbe Krystalle lieferte, die bei 140° sich dunkel zu färben beginnen und sich bei 196° zersetzen.

Analyse.

Stickstoff nach Dumas.

0,1023 g Substanz bei T = 17° und B = 741 mm 17,50 ccm N
das entspricht . . . . 19,63% N

Berechnet für $C_{15}H_{16}N_6O_8$:	Gefunden:
N: 19,81%	19,63%

Tryptophan wurde im wesentlichen nach dem Verfahren von Hopkins und Cole dargestellt[1]).

Kondensation des Tryptophans mit Methylal.

Wir versetzten 1 g Tryptophan mit $^1/_2$ g Methylal und setzten so viel Essigsäureanhydrid zu, daß die Substanz gerade mit Flüssigkeit bedeckt war. Wir ließen das Reaktionsgemisch durch 48 Stunden stehen, verjagten dann das Essigsäureanhydrid durch wiederholtes Abdunsten mit absolutem Alkohol. Da aus Alkohol nichts auskrystallisierte, versuchten wir vergebens ein Ausfällen mit Wasser. Nach dem Abdunsten des Alkoholwassers verblieb ein Öl, das nur in Alkali löslich war. Da nur kaltes Alkali verwendet werden konnte, lösten wir in alkoholischem Alkali auf und fällten mit Schwefelsäure aus. (So viel Schwefelsäure, daß Kongopapier gerade schwach blau anfärbte.) Der entstandene Niederschlag wurde filtriert mit Wasser schwefelsäurefrei gewaschen, dann getrocknet, wieder gelöst und gefällt, bis eben eine Probe auf dem Platinspatel aschenfrei verbrannte.

Die im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrocknete Substanz wurde zur Analyse verwendet. Diese lieferte trotz aller erdenklichen Mühe immer Werte, die in der Mitte zwischen den theoretisch berechneten Werten des Kondensationsproduktes des Methylenditryptophans und jenen des Ausgangsmaterials lagen.

Der Körper ist in Wasser, Ligroin, Benzol, Alkohol, Methylalkohol unlöslich, gibt noch die Glyoxylsäureaktion und bräunt sich bei 185°.

Analyse.

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung:

0,1622 g	Substanz gaben	0,3889 g	Kohlensäure	= 65,37% C
0,1622 g	„ „	0,0907 g	Wasser	= 6,21% H
0,1951 g	„ „	0,4652 g	Kohlensäure	= 65,00% C
0,1951 g	„ „	0,1069 g	Wasser	= 6,09% H

[1]) Hopkins und Cole, Journ. of Physiol. 27, 418; 29, 451.

Stickstoffbestimmung nach Dumas:

0,1256 g Substanz bei T = 22° und B = 743 mm 14,45 ccm N = 13,00 % N
0,0914 g „ „ T = 16,5° „ B = 736 mm 10,2 „ N = 12,77 % N

Berechnet für $C_{12}H_{12}N_2O_2$. Kondensat	Gefunden: I %	Gefunden: II %	Berechnet für $C_{23}H_{22}N_4O_4$ Methylen-ditryptophan %	Berechnet für $C_{11}H_{12}N_2O_2$ Ausgangs-körper %
C: 66,66	65,37	65,00	66,02	64,73
H: 6,42	6,21	6,09	5,26	5,88
N: 12,94	13,00	12,77	13,42	13,72

l-Tyrosin wurde aus Seide mittels Schwefelsäurehydrolyse dargestellt.

Darstellung von p-Oxy-tetrahydroisochinolin-Carbonsäure.

Die Methode der Herstellung war identisch und die Reaktion verlief in gleicher Weise wie bei Amé Pictet und Theodor Spengler bei der Verwendung von racemischem Tyrosin[1]).

13 g l-Tyrosin wurden mit 75 g konzentrierter Salzsäure versetzt und unter Erwärmen am Rückflußkühler im Wasserbade ließen wir nach und nach 19 g Methylal zufließen. Wir unterhielten die Reaktion durch 12 bis 14 Stunden und dampften dann das Ganze ein. Der Abdampfrückstand löste sich fast vollkommen in Wasser auf, wurde mit Ammoniak gefällt, mußte aber mit Essigsäure sorgfältig rückneutralisiert werden, da in überschüssigem Ammoniak ein Lösen erfolgte. Der erhaltene mikrokrystallinische Niederschlag wurde durch Lösen in Ammoniak und Fällen mit Essigsäure gereinigt und mit Alkohol gut ausgewaschen.

Die Ausbeute der Reaktion ist nahezu quantitativ.

Der im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrocknete Körper schmilzt oder sintert noch nicht bei 360°, beginnt sich aber schon bei 195° zu bräunen. Die Substanz gibt aus wässeriger Lösung mit wässeriger Pikrinsäure ein Pikrat, das aus Wasser umkrystallisiert, bei 290° noch unverändert ist.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 44, 2033, 1911.

Analyse.

Stickstoff nach Dumas:

0,1149 g Substanz gaben bei T = 17° und B = 749 mm = 7,10 ccm N
das entspricht . . . . 7,16 % N

Berechnet für $C_{10}H_{11}NO_3$:	Gefunden:
N: 7,25 %	7,16 %

Konstitutionsformel:

```
            CH  CH
     CH //\ C /\ CH . COOH
        |    ||   |
 OH . C      ||   NH
        \\/ C \/
         CH    CH2
```

Reaktionvsverlauf:

```
            C
            H2                                   CH2
  CH //\  /\ CH.COOH                      //\ C /\ CH . COOH
     |   ||           + H.CHO =          |   ||   |              + H2O
OH . C   ||  NH2                         |   ||   NH
      \\/ CH                          OH \\/ C \/
       CH                                        CH2
```

Polarisation.

Die Mikropolarisation nach E. Fischer wurde in gleicher Weise wie beim Histidin durchgeführt, nur mit dem Unterschiede, daß wir eine schwach salzsaure Lösung verwenden mußten.

0,1071 g Substanz wurden in 19,5453 g Wasser gelöst und polarisierten um 0,25° nach links.

Daraus berechnet sich $[\alpha]_D^{25°} = -45,62°$.

Darstellung von p-Oxy-tetrahydroisochinolin.

Vorversuch.

Die Abspaltung der Kohlensäure versuchten wir in gleicher Weise wie bei der Imidazol-(Iso-)Piperidin-Carbonsäure durch Erhitzen im Vakuum. Es resultierte auch hier ein zum Teil verkohltes Produkt, das sich nicht umdestillieren ließ und in 10%iger Salzsäure löslich war. Die so erhaltene Lösung wurde mit Alkohol versetzt, von der entstandenen Trübung abfiltriert. Die alkoholische Lösung ergab ein Öl, das mit Gold- und Platinchlorid amorphe Niederschläge, mit Pikrinsäure ebenfalls nur Fällung ergab; daher wurde durch Fällung mit alkoholischer Sublimatlösung aus der wässerigen Lösung des Öles eine

Doppelverbindung isoliert. Diese wurde in Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die nach dem Filtrieren erhaltene Lösung krystallisierte beim Einengen an.

Um die Reaktion besser verfolgen zu können, erhitzten wir nunmehr eine größere Menge p-Oxy-tetrahydroisochinolin-Carbonsäure bei 20 mm Vakuum auf 275° im Glycerinbade. Bei 238° begann Bräunung der Masse. Es fand hierbei Wasserabspaltung statt. Die so erhaltene Masse ist in Ammoniak und Wasser unlöslich, in 10%iger heißer Salpetersäure fand sukzessive Lösung statt und es krystallisierte in der Kälte ein amorpher, rot gefärbter Körper aus, der in Wasser, Alkohol, Äther unlöslich ist und sich bei 135° bräunt, bei 260° verkohlt.

Analyse.

Stickstoff nach Dumas:

0,0898 g Substanz gaben bei T = 17° und B = 736 m 6,0 ccm N
das entspricht . . . . 7,61% N

Es dürfte die Hauptmenge der Substanz eine Kondensation unter Anhydridbildung eingegangen sein, während bei dem eingeschlagenen Verfahren nur ein Teil Kohlensäure abspaltet.

Berechnet für $C_{20}H_{20}N_2O_5$:	Gefunden:
N: 7,61%	7,61%

```
                        O
                       / \
               CO          CO
   CH CH₂    /               \     CH₂ CH
CH        CH             CH     C       CH
                                              = C₂₀H₂₀N₂O₅.
OH.C      NH             NH             C.OH
     C                       C
   CH CH₂                  CH₂ CH
```

Wir versuchten nunmehr eine Probe des Anhydrides noch höher zu erhitzen, wobei sich ein Geruch, der an Isoamylamin erinnert, bemerkbar machte. Es dürfte wahrscheinlich schon Aufspaltung des Tyrosinkörpers stattgefunden haben. Die Masse war auch bereits stark verkohlt.

Darstellung von p-Oxytetrahydroisochinolin-Carbonsäuremethylester.

Wir suspendierten 3 g p-Oxytetrahydroisochinolin-Carbonsäure in 30 g absolutem Methylalkohol und leiteten bei Wasserbadwärme trockenes Salzsäuregas ein. Wir destillierten dann

die Salzsäure und den Methylalkohol im Vakuum ab, lösten den festen Rückstand in Wasser auf und strichen den beim Einengen und Abkühlen entstehenden Sirup auf Tonteller auf. Da die getrocknete Substanz in verdünntem Alkohol unlöslich war, wurde sie pulverisiert, in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt.

Wir strichen wieder auf Ton auf und wiederholten zu Reinigungszwecken das Lösen und Fällen nochmals.

Da die Analyse der Substanz viel zu niedrige Werte an Chlor ergab, mußte die Salzsäure abdissoziieren. Wir lösten daher den festen Körper in Wasser auf und fällten mit einer konzentrierten Natrium-Acetatlösung den Ester aus und wuschen ihn kochsalzfrei.

Der Ester ist in Wasser schwer löslich und zersetzt sich noch nicht bei 330°. Leichter erfolgt ein Lösen durch Zusatz von etwas Salzsäure. Der Ester liefert aus wässeriger Lösung ein Pikrat, das, aus Wasser umkrystallisiert, sich bei 230° zersetzt.

Polarisation.

Sie wurde in schwach salzsaurer Lösung durchgeführt und ergab eine optische Aktivität nach links.

0,1344 g des Esters, in 17,9481 g Wasser gelöst, mußten auf das doppelte Volumen verdünnt werden, weil die Lösung für die Polarisation noch zu stark angefärbt war, so daß sie eigentlich bloß 0,3744%ig war. Wir erhielten einen Drehungswinkel von —0,29°.

Daraus ergibt sich $[\alpha]_D^{25°} = -77,46°$ ($\pm 0,02°$).

Analyse.

Stickstoff nach Dumas:

Die im Vakuum getrocknete Substanz ist krystallwasserfrei.

0,1075 g Substanz ergaben bei T = 25° und B = 738 mm 6,3 ccm N
das entspricht . . . . 6,55% N

Berechnet für $C_{11}H_{13}NO_2$:	Gefunden:
N: 6,76%	6,55%

Kondensation von Histidin mit Acetaldehyd.

Versuch 1.

Wir versetzten 3 g Histidinchlorhydrat mit 20 g konzentrierter Salzsäure und ließen unter Kühlung 1,3 g Acetaldehyd zufließen. Es fand Krystallisation statt, aber nach dem Ab-

dampfen der Salzsäure und Umkrystallisieren aus Wasser erhielten wir, wie die Schmelzpunktbestimmungen und die Diazoreaktion, die dem Histidin zukommt[1]), ergaben, den Ausgangskörper zurück.

Versuch 2.

Wir verrieben 3 g pulverisiertes Histidinchlorhydrat mit 1,6 g Acetaldehyd und gaben erst dann 10 ccm gleicher Volumina an konzentrierter Salzsäure und Wasser dazu. Wir ließen das Gemisch 24 Stunden stehen und erwärmten schließlich 1 Stunde. Aber auch diesmal war die Reaktion gar nicht angegangen.

Versuch 3.

3 g Histidinchlorhydrat wurden zunächst unter Kühlung mit 1,3 g Acetaldehyd und 20 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt und hierauf die Reaktion durch Erwärmen während 10 Stunden begünstigt. Wir verdampften die Salzsäure, kochten den Rückstand mit Wasser aus; aus der wässerigen Lösung erhielten wir unverändertes Histidinchlorhydrat. Der zweite, in Wasser unlösliche braune Körper ist in Aceton löslich und in Lauge unlöslich. Da diese Lösung nicht krystallisierte, wurde das Aceton verdunstet, der Rückstand mit Wasser gut ausgekocht und zur Analyse getrocknet.

Analyse.

Stickstoffbestimmung nach Dumas:

0,1855 g Substanz ergaben bei $T = 24^{\circ}$ und $B = 744$ mm 2,0 ccm N
das entspricht . . . . 1,21 % N

Wie der geringe Stickstoffgehalt zeigt, dürfte Aldolkondensation stattgefunden haben, und es resultierte ein Aldolharz.

Auch mit Jodwasserstoff oder Bromwasserstoff als Kondensationsmittel erhielten wir keine besseren Resultate.

Kondensation von Histidin mit Brenztraubensäure.

Die Herstellung der Brenztraubensäure erfolgte aus Weinsäure und Kaliumbisulfat nach Wohl und Maag[2]).

---

[1]) H. Pauly, Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 508.

[2]) Chem. Centralbl. **1910**, 3.

Versuch 1.

Wir ließen zu 2 g Histidinchlorhydrat, die wir mit 20 g konzentrierter Salzsäure versetzten, 2 g Brenztraubensäure zufließen und erwärmten 8 Stunden. Nach dem Eindampfen und Umkrystallisieren erhielten wir wieder Histidinchlorhydrat.

Versuch 2.

Wir versetzten 2 g Histidinchlorhydrat zunächst mit 2 g Brenztraubensäure, verrieben das Gemisch sehr gut und gaben erst dann konzentrierte Salzsäure zu. Wir ließen das Gemisch 24 Stunden stehen und zentrifugierten es dann.

Sowohl der in Salzsäure lösliche, als auch der unlösliche Teil ergaben Pikrolonate vom Zersetzungspunkte 225^0, das ist, wie durch Vergleich festgestellt wurde, jener des Histidinpikrolonates.

Über den Ort der Eiweißsynthese und die Erzielung des minimalen Stickstoffgleichgewichtes mit Eiweißkörpern verschiedener Zersetzlichkeit.

Von

Hans Steck.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 26. Januar 1913.)

Mit 11 Figuren im Text.

Die schon früher aus theoretischen und praktischen Gründen sehr oft bearbeitete Frage des Eiweißminimums[1]) hat in neuerer Zeit durch die Fortschritte der Eiweißchemie einerseits, durch die grundlegende, von Rubner inaugurierte, energetische Betrachtungsweise des Stoffwechsels andererseits, neue Gesichtspunkte der Bearbeitung gewonnen. Die energetische Betrachtungsweise führte vor allem zur Erkenntnis, daß, wenn die Energiebedürfnisse des Körpers durch N-freie Nahrungsstoffe gedeckt werden, dann eine minimale N-Ausscheidung eintritt, die der Abnutzungsquote von Rubner entspricht, d. h. derjenigen Menge Eiweiß, die täglich vom Organismus abgenützt aus den Zellen abgeschoben wird. Dieses stets zu Verlust gehende Körpereiweiß kann in der Nahrung durch nichts anderes als durch Eiweiß ersetzt werden. Rubner zeigte am Tier, Siven[2]) und Landergren[3]) am Menschen, daß sehr geringfügige Eiweißmengen hinreichen, um N-Gleichgewicht zu erzielen. Die ältere Anschauung, daß bei Darreichung von Eiweiß mehr N notwendig sei, als im Hungerstoffwechsel ausgeschieden werde, wurde durch eine Anzahl von Untersuchungen widerlegt, die der Deckung des Energiebedarfes durch N-freie Nahrung Rechnung trugen.

---

[1]) Eine recht vollständige und kritische Übersicht der einschlägigen Literatur findet sich in dem Essay von Lafayette B. Mendel in den Ergebnissen d. Physiol. 11.

[2]) Siven, Skand. Arch. f. Physiol. 11, 308.

[3]) Landergren, ibid. 14, 112.

Die Fortschritte der Eiweißchemie führten zu Versuchen, die Bedingungen genauer zu präzisieren, von denen bei verschiedenen Eiweißen die Größe des Eiweißminimums abhinge. L. Michaud erzielte in einer sehr bemerkenswerten Arbeit dann das kleinste Minimum, d. h. mit einer geringsten Menge von N Stickstoffgleichgewicht, wenn die verfütterten Eiweißkörper arteigen waren. Der Gesichtspunkt, der ihn bei seiner Arbeit geleitet hatte, war der, daß dem Organismus diejenigen Bausteine gerade in der Konzentration geboten werden müßten, die am Aufbau des körpereigenen Eiweißes beteiligt seien[1]). Rubner wies darauf hin, daß es nicht ein, sondern mehrere Eiweißminima gebe, je nach den Eiweißarten, mit denen sie angestrebt werden. Thomas stellte darauf den Begriff der biologischen Wertigkeit auf, indem er zeigte, daß die einzelnen Eiweißkörper das Körpereiweiß nicht vollwertig zu ersetzen vermögen[2]). Er versucht, diese Erscheinung mit der von Abderhalden vorgeschlagenen Idee von der Auslese der Aminosäuren zu erklären. Die Anschauungsweise Abderhaldens von der Notwendigkeit der Zufuhr sämtlicher Aminosäuren, die im körpereigenen Eiweiß vorkommen, hat durch die überaus wichtigen Nachweise von Knoop und Embden, die die Synthese von Aminosäuren im Organismus aus Fettsäuren und Ammoniak erfolgen sahen, ihre behauptete Grundlage, die Unfähigkeit des Körpers, Aminosäuren außer Glykokoll zu synthetisieren, verloren. Die Arbeiten Knoops[3]) und Embdens[4]) markieren die erste prinzipiell neue Etappe in dem Problem der Eiweißsynthese im tierischen Organismus seit der grundlegenden Arbeit, in der zum erstenmal O. Loewi die Eiweißsynthese aus nicht eiweißartigen Bausteinen bewies.

Jetzt, wo die prinzipiellen Fragen der Eiweißsynthese im tierischen Organismus durch die Arbeiten von Rubner, O. Loewi, Henriques und Hansen, Abderhalden und seinen Mitarbeitern, Lüthje, Knoop und Embden geklärt sind, kann

---

[1]) L. Michaud, Beitrag zur Kenntnis des physiologischen Eiweißminimums. Zeitschr. f. physiol. Chemie 59, 1909.

[2]) Thomas, Über die biologische Wertigkeit der N-Substanz in verschiedenen Nahrungsmitteln. Rubners Arch. 1910, 218.

[3]) Knoop, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 489 bis 502, 1910a; Centralbl. f. Physiol. 24, 815, 1910b.

[4]) Embden, diese Zeitschr. 29, 423 bis 428, 1910.

daran gedacht werden, speziellere Fragen in Angriff zu nehmen. Zu diesen spezielleren Fragen gehört u. a. diejenige nach der Beteiligung einzelner Organsysteme an der Eiweißsynthese und deren einzelnen Phasen. Zwei Organe sind es, die in erster Linie in Betracht kommen, wenn es sich darum handelt, zu erforschen, wo nach Aufnahme von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten in der Nahrung diejenige Verarbeitung erfolgt, die dem Organismus das ihm nötige Eiweiß gewährt, nämlich der Darm und die Leber. Von der Synthese zellspezifischen Eiweißes, die die einzelnen Zellen vollziehen und die auch im Hungerzustande stattfindet — das bestbekannte Beispiel dieser Art ist die Entstehung von Nucleinen in den Eierstöcken des Lachses aus Abbauprodukten der Seitenrumpfmuskulatur, die in tiefgründiger Weise durch Miescher[1]) in voller Erkenntnis seiner allgemein physiologischen Bedeutung durchgearbeitet wurde —, wird bei den nachfolgenden Betrachtungen abgesehen.

Bekanntlich vertritt Abderhalden die auf Grund seiner Argumente durchaus berechtigte Anschauung, daß die Abbauprodukte des Eiweißes, falls die erforderlichen Bausteine insgesamt vorhanden sind, in der Darmschleimhaut zu indifferentem Bluteiweiß synthetisiert werden, und er läßt die Leber auf Grund von Erfahrungen an Hunden mit Eckscher Fistel eine zum mindesten nicht unersetzbare Rolle spielen. Gegen die Anschauung, daß ausschließlich die Darmschleimhaut die Synthese des Eiweißkörpers besorge, lassen sich mancherlei Einwände erheben, Einwände, von denen die wesentlichsten in der unter Leitung von Prof. Asher angestellten Untersuchung von Adam Loeb[2]) ausführlich erörtert wurden Da die Frage, ob die Eiweißsynthese nach Zufuhr oder dem Auftreten der notwendigen Bausteine ausschließlich im Darm stattfinde, sowie die eng damit zusammenhängende Frage, ob bei Zufuhr von Eiweiß alles Eiweiß bis zu nicht mehr eiweißartigen Produkten abgebaut wird, nicht allein für die Lehre von den Leistungen des Darmes wichtig ist, sondern auch eine Vorfrage für die Erkenntnis der Leberfunktion ist, folgte ich der An-

---

[1]) Miescher, Statistische und biologische Beiträge zur Kenntnis vom Leben des Rheinlachses. Separatabdruck aus der schweizerischen Literatursammlung zur internationalen Fischereiausstellung in Berlin 1880, 183 und Arch. f. Anat. u. Physiol. 1881. Anat. Abteil. 193.

[2]) A. Loeb, Zeitschr. f. Biol. 55, 167.

regung von Professor Asher mit Hilfe eines zu beschreibenden Versuchsplanes neue Einblicke zu erhalten. Meine Untersuchung schließt sich früheren von Prof. Asher und seinen Mitarbeitern angestellten Arbeiten an, die im Gegensatz zu meiner Arbeit mehr direkt die Leberfunktion im Auge hatten (Arbeiten von Boehm, Reichenau, Pletnew und Loeb).

Die Annahme, daß in der Darmschleimhaut die Synthese der Abbauprodukte des Eiweißes stattfinde, setzt voraus, daß diese Bausteine den Darmzellen zeitlich in einer Art und Weise geboten werden, daß sie insgesamt gleichzeitig vorhanden sind. Bei den bisherigen summarischen Versuchen mit Verfütterung größerer Eiweißmengen wird sich der etwaige Einfluß ungleichzeitigen Auftretens der Spaltprodukte nicht geltend machen können, dazu sind quantitative Versuche strengerer Art notwendig, wozu, wie das schon A. Loeb und E. Voit und Zisterer getan haben, die Fütterung mit Eiweißmengen geschehen muß, die sich an der Grenze des Eiweißminimums halten. Die einzelnen Eiweißkörper sind gegenüber den Verdauungssäften verschieden resistent, und die verschiedenen Bausteine ein und desselben Eiweißkörpers können zu verschiedenen Zeiten abgespalten werden. Die Schwerspaltbarkeit beruht im wesentlichen darauf, daß ein schwer spaltbarer Kern da ist, während einzelne Amidosäuren leicht abgespalten werden. Aus diesen Verhältnissen der Spaltbarkeit läßt sich ableiten, daß, falls die Synthese der Endprodukte zu Eiweiß ausschließlich in der Darmschleimhaut stattfindet, das Eiweißminimum unter sonst gleichen Bedingungen bei Ernährung mit Eiweißstoffen verschiedener Spaltbarkeit verschieden sein muß. Bei einem leicht spaltbaren Eiweißkörper werden sämtliche Bausteine annähernd gleichzeitig geboten und die Synthese in der Dünndarmschleimhaut kann mit derjenigen Menge von N stattfinden, die der Abnutzungsquote des Körpereiweißes entspricht. Anders mit schwer spaltbaren Eiweißkörpern. Hier wird ein gewisser Teil zwar rasch abgespalten, ein anderer aber bleibt noch ungespalten. Der rasch abgespaltene Teil wird verarbeitet; folglich fehlen diese Bausteine zu einer späteren Zeit, wenn die Resorption der schwerer spaltbaren Teile erfolgt. Hieraus würde sich ergeben, daß von einem schwerer spaltbaren Eiweißkörper größere Mengen erforderlich wären, damit die Abnutzungsquote gedeckt, oder das zur Her-

beiführung von Stickstoffgleichgewicht nötige Eiweißminimum erreicht wird. Findet aber die Eiweißsynthese der Verdauungsprodukte teilweise außerhalb der Darmschleimhaut statt, so braucht keine Abhängigkeit des Eiweißminimums von der leichteren oder schwereren Spaltbarkeit der Eiweißkörper zu bestehen, namentlich wenn man berücksichtigt, daß der Organismus selbst Aminosäuren synthetisieren kann. Auf Grund dieser Erwägungen war zu untersuchen, welche Mengen verschiedener, durch ihre Spaltbarkeit sich unterscheidender Eiweißkörper eingeführt werden mußten, um den Eiweißverlust des Körpers, der nur der Abnutzungsquote entstammen durfte, gerade zu ersetzen.

Die soeben entwickelte Aufgabe führt bei dem Versuch ihrer Lösung von selbst gleichzeitig mit auf dasjenige, was von Rubner und Thomas als die biologische Wertigkeit der Eiweißkörper genannt wird. Gewissermaßen wird geprüft, ob die verschiedene Spaltbarkeit der Eiweißkörper ein Faktor ist, der für die biologische Wertigkeit mitbestimmend ist.

Mit dem Einfluß der verschiedenen Spaltbarkeit der Eiweißkörper auf den Eiweißstoffwechsel befassen sich die Arbeiten von Falta und Vogt. Die Methoden und die Gesichtspunkte der Arbeiten sind andere als in meiner Arbeit, auch wird von Falta der Begriff der Spaltbarkeit weiter gefaßt, als ich oben definiert habe. Trotzdem konnte ich unbedenklich der von Falta gegebenen Einteilung der Eiweißkörper nach ihrer Zersetzlichkeit folgen, weil sowohl Falta[1]) wie Vogt[2]) die verschiedene Spaltbarkeit im Magendarmkanal als einen beteiligten Faktor anerkennen.

Methodik.

Die auf Grund meines Versuchsplanes eingeschlagene Versuchsanordnung war die folgende: Durch eine möglichst N-arme, aber kohlenhydratreiche Nahrung wird während 5 Tagen der N-Verbrauch des Körpers auf ein Minimum eingeschränkt, d. h.

1) Falta, Der Eiweißstoffwechsel bei der Albuminurie. Deutsches Archiv f. klin. Med. 81, 231; Falta, Über den zeitlichen Ablauf der Eiweißzersetzung im tierischen Organismus. Ebenda 86, 517.

2) Vogt, Der zeitliche Ablauf der Eiweißzersetzung bei verschiedener Nahrung. Aus der med. Klinik Marburg 1906. Habilitationsschrift.

es sollte die gesamte erforderliche Calorienzahl in Form von Kohlenhydraten eingeführt werden, so daß das zerfallende Eiweiß nur Eiweiß der Abnutzungsquote darstellt. Die drei ersten Tage dienen, bei möglichstem, aber nicht vollständigem Ausschluß von Eiweiß in der Nahrung zur Feststellung des Eiweißminimums bzw. der Abnutzungsquote. Am 4. Tage findet jeweilen Superposition desjenigen Eiweißkörpers statt, mit dem das Minimalgleichgewicht erzielt werden soll, in der Art, daß gerade soviel Eiweiß gegeben wird, als der vorher gefundenen Abnutzungsquote entspricht. Auf diese Weise wird geprüft, ob die verschiedenen von mir angewandten Eiweißkörper gerade das Körpereiweiß der Abnutzungsquote zu ersetzen vermögen oder ob sie sich anders verhalten.

Harn und Kot werden vom 2. bis 5. Tage aufgefangen. Der Harn wird mit etwas Natriumfluorid versetzt, um eine Zersetzung zu verhüten. Der Kot wird zu Anfang und Ende des Versuchs mit Kohle abgegrenzt, dazwischen für die einzelnen Tage nur schätzungsweise, feucht gewogen, im Trockenschrank getrocknet, gewogen und pulverisiert aufbewahrt. Dann werden von Harn und Kot N-Bestimmungen nach Kjeldahl immer in Doppelanalysen gemacht, ferner bestimmte ich die Gesamtschwefelsäure im Harne (Kochen mit HCl und Fällen mit Chlorbarium, Bariumsulfat gewogen). Diese Bestimmung sollte einen weiteren Vergleichsmaßstab für die Eiweißzersetzung abgeben, da ein vermehrter Eiweißzerfall die Ausscheidung der Gesamtschwefelsäure steigert. Da die Schwefelsäureausscheidung sehr rasch erfolgt, konnte sie auch einen Maßstab für die Spaltbarkeit der einzelnen Eiweißkörper abgeben.

Die Nahrung wurde zum Teil selbst auf N analysiert, zum Teil die Zahlen nur Tabellen entnommen. Dasjenige Eiweiß, das zum Ersatz des Körpereiweißes dienen sollte, wurde stets analysiert. Die in der Hauptsache aus Kohlenhydraten bestehende Kost wurde im allgemeinen gut vertragen, nur im letzten Versuch zeigten sich, wie wir später sehen werden, verschiedene Störungen. Sie war erst im zweiten Versuch genügend bemessen, wenigstens führe ich die hohen N-Zahlen im Harn während des ersten Versuchs auf eine Eiweißzersetzung zu dynamogenen Zwecken zurück. Von da an war die Zusammensetzung der Nahrung stets gleichmäßig die folgende:

	Gewicht g	N g	Eiweiß	Fett g	Kohlenhydrate g	Calorien
Zucker	400	—	—	—	399,0	1640
Butter	40	0,04	—	33,75	0,2	316
Honig	50	—	—	—	38,0	154
Tapioca + Mondamin . .	155	0,21	—	0,09	127,3	530
Getrocknete Zwetschen .	160	0,64	—	—	33,0	150
Grahambrot	10	0,23	—	0,10	5,0	25
		1,12	7,0	33,94	602,5	2815

Der Caloriengehalt der Nahrung beträgt pro Kilogramm Körpergewicht 49, was als vollständig hinreichend zu bezeichnen ist. Die Kost wurde auf drei Mahlzeiten täglich verteilt:

6 Uhr morgens Frühstück: Brot 10 g, Butter 30 g, Honig 50 g, Zucker ca. 100 g in zwei Tassen Kaffee.

1 Uhr mittags: Suppe (Tapioca 30 g, Butter 10 g), Kaffee mit ca 50 g Zucker, zwei Drittel eines Puddings (125 g Mondamin, 125 g Zucker) und zwei Drittel eines Zwetschenbreies (160 g getrocknete Zwetschen mit 125 g Zucker).

$7^1/_2$ Uhr abends: ein Drittel des Puddings und ein Drittel des Zwetschenbreies und ca. zwei Tassen Kaffee mit ca. 100 g Zucker. Oft später noch etwas Mineralwasser oder Tee.

Die getrockneten Zwetschen enthalten relativ viel Eiweiß, aber ich wählte sie, weil sie bei der sonst weichen Kost das einzige Mittel boten, durch die Kautätigkeit reichliche Speichelsekretion anzuregen. Hätte ich sie weggelassen, so wäre daraus wohl ein ganz minimaler N-Gehalt der Nahrung resultiert, aber ich glaube nicht, daß diese Einförmigkeit länger ertragbar gewesen wäre.

Als Versuchsperson diente ich selbst. Körpergewicht anfangs 58 kg, sinkt dann etwas und beträgt während der Versuche durchschnittlich 57 kg. Alter 21 Jahre. Gesund, abstinent. Ich war die ganze Zeit stark beschäftigt, besuchte Kliniken und Vorlesungen, machte die notwendigen Laboratoriumsarbeiten, daneben hatte ich täglich noch etwa 10 bis 12 km Weges zu Fuß zurückzulegen. Der Versuchstag fängt jeweilen 6 Uhr morgens an.

Das Körpergewicht schwankte zwischen 58 und 56 kg, wohl zum Teil infolge verschiedenen Wassergehaltes des Organismus. Nur im letzten Versuch kam eine bedeutende Senkung zustande, die aber auf krankhaften Zuständen infolge einer interkurrenten fieberhaften Angina zu beruhen schien.

Versuche.

Von den fünf ersten Versuchen dienten zwei zur Ermittlung der Minimal-N-Ausscheidung, bei den drei anderen wurde am 4. Tage Rindfleisch superponiert.

Protokoll zu Versuch 1.

14. bis 16. Mai. (Fig. 1.)

	14. V.	15. V.	16. V.
Harnmenge	1605 ccm	1125 ccm	2010 ccm
Harn-N	8,659 g	6,344 g	6,237 g
Kot-N	0,423 g	1,303 g	1,817 g
Bilanz-N	−7,86 g	−6,64 g	−6,02 g
N im getr. Kot	6,13 %	4,49 %	5,49 %

Die ziemlich hohen N-Zahlen ließen erkennen, daß noch Eiweiß zu dynamogenen Zwecken zersetzt wurde. Deshalb wurde die oben beschriebene kohlenhydratreichere Diät benutzt. Die neue Diät gibt sofort bedeutend niedrigere Werte.

Protokoll zu Versuch 3.

29. Mai bis 1. Juni. (Fig. 2.)

	31. Mai	1. Juni
Harnmenge	2500 ccm	2330 ccm
Harn-N	3,699 g	3,960 g
Kot-N	1,882 g	1,930 g
Bilanz-N	−4,39 g	−4,79 g
N im Kot	5,97 %	5,95 %

Das Ergebnis dieses Versuches ist, daß am 3. Versuchstage 4,39 g N, am 4. Versuchstage 4,79 g vom Organismus in maximo verloren werden, im Mittel 4,59 g. In späteren Versuchen sinkt der Verlust von Körperstickstoff bei derselben N-armen Diät noch mehr. Rechne ich des Vergleiches mit anderen Autoren wegen nur den im Harn ausgeschiedenen N, so kommt bei mir in diesen ersten Versuchen 0,066 g N pro Kilogramm Körpergewicht. Im Laufe meiner Versuche bin ich aber nach dieser Rechnungsweise bis zu 0,040 g N pro Kilogramm Körpergewicht gekommen, Folin gibt 0,0406 bis 0,0594, Landergren 0,048 bis 0,0539, Thomas 0,0391 und Siven 0,0317 an. Meine Versuchsanordnung ermöglicht demnach zu erreichen, daß am dritten Versuchstage nur derjenige N-Verlust eintritt, der von der Abnutzungsquote herrührt.

Bevor ich nun auf die Superpositionsversuche eingehe, möchte ich hier die Frage des Kot-N kurz besprechen. Er hielt sich während sämtlicher Versuche durchschnittlich immer

auf derselben Höhe. Er ist aber im Verhältnis zum N-Gehalt der Standarddiät als hoch zu bezeichnen, da er durchschnittlich höher ist als dieser: Durchschnitt des Kot-N von Versuch 1 bis 9 (Tage der Eiweißzulage ausgenommen) pro Tag 1,79 g, Nahrungs-N 1,12 g. Wir können nun nicht wohl annehmen, daß sämtlicher Nahrungs-N unresorbiert den Darm passiert habe, sondern müssen eine andere Erklärung geben.

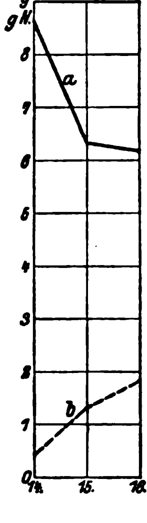
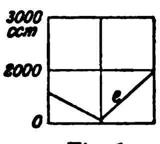



Fig. 1.
Linie a = Harn-N.
„ b = Kot-N.
„ c = Harnmenge.

Eine reichliche Kohlenhydratnahrung nimmt die Darmtätigkeit stark in Anspruch, die Hauptmenge des Kot-N stammt wohl aus den Verdauungssäften, die bei solchen Quantitäten, wie sie meine Diät darstellt, in abundanter Menge sezerniert werden muß. Tigerstedt sagt in Nagels Handb. d. Physiol. (1, 348): „Bei an N sehr armer Kost enthält der Kot ziemlich viel N, und zwar scheint der ausgeschiedene N um so größer zu sein, je reichlicher die Kost.“ Dies ist sehr schön an meinem ersten Versuche zu sehen, wo ich sukzessive die Nahrung vermehrte, bis ich die für die weiteren Versuche akzeptierte Standardkost erhielt. Auch Thomas erhält in seinen Versuchen über die biologische Wertigkeit bei ähnlicher, sehr reichlicher Kost ähnlich hohe Zahlen wie ich; er sagt darüber[1]: „Die Kost war nicht nur sehr reichlich bemessen, sondern stellte auch wegen der starken Kohlenhydratgärung starke Anforderungen an den Darm, die an Überlastung grenzten. Sie wurde schlecht ausgenutzt, und der reichliche Kot brachte auch mehr N aus den Verdauungssäften zur Ausscheidung.“

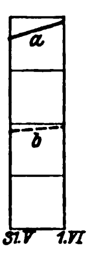
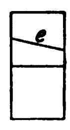



Fig. 2.

Das stimmt vollständig auch für meine Versuche. Meines Erachtens sollte der N im Kot z. T. auch der Abnutzungsquote zugefügt werden, besonders wenn er solche Beträge annimmt.

[1]) Rubners Arch. 1909, 223.

Das minimale N-Gleichgewicht kann die Kot-N-Ausscheidung auch nicht außer Rechnung lassen, sonst steht der Gesamtorganismus eben nicht in N-Gleichgewicht, wenn er 1 bis 2 g N durch die Darmsekrete verliert. Ich habe deshalb in meinen Versuchen den Kot-N stets als Verlust des Körpers berechnet und nicht als unresorbierte Nahrung; praktisch kommt dies ja für die Bilanz bei reichlicher Eiweißnahrung aufs gleiche hinaus. Würde man aber bei N-armer Nahrung den Kot-N stets, wie oft üblich, als unresorbierten Nahrungs-N auffassen, so müßte man schon in der Nahrung eine negative N-Menge annehmen, was untunlich ist. Es scheint vielmehr, daß bei dieser gleichmäßigen Kost und gleichmäßigen Kotabgabe der Kot als Ausscheidungsprodukt des Körpers analog dem Harn in Rechnung zu ziehen sei. Thomas (l. c.) glaubt den Gesamt-N-Umsatz als Urin-N + 1 g N aus Kot annehmen zu können, zieht aber aus praktischen Gründen nur den Urin-N in Rechnung. Mir scheint dies nicht ohne weiteres richtig zu sein, der Kot-N ist nach seiner Herkunft sehr schwer zu beurteilen, und man läuft daher stets Gefahr, durch Annahmen, denen keine Sicherheit anhaftet, Fehler zu machen, namentlich bei Versuchen, die mit den kleinen N-Mengen des Eiweißminimums zu tun haben. Ich habe daher in erster Linie den Kot-N als Körperverlust-N in Rechnung gebracht; nur in jenen Fällen, wo am Tage der Eiweißsuperponierung ein Anstieg des Kotstickstoffes sich zeigte, fühlte ich mich berechtigt, dies auf eine mangelhafte Resorption zurückzuführen.

Anfangs ist vielleicht gleichzeitig auch noch zu bemerken, daß Harnmenge und Harn-N durchaus nicht parallel gehen. Die Harnmenge hängt von zweierlei Momenten ab: 1. von der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge und 2. hauptsächlich von der Außentemperatur; da ich bei warmem Wetter sehr stark transpiriere, machte sich das besonders bemerkbar.

Ersatz der Abnutzungsquote durch Fleisch.

Die nächsten Versuche dienten dazu, am 4. Tage der Standardernährung diejenige Menge Fleisch zuzusetzen, die annähernd der dem Organismus verlorengegangenen Eiweißmenge entsprach. Der N-Gehalt des benutzten Rindfleisches wurde vorher bestimmt. Vom Rindfleisch wissen wir durch die Untersuchungen von Thomas, daß seine biologische Wertigkeit so

groß ist, daß es vollwertig den Eiweißgehalt des Körpereiweißes zu ersetzen vermag. Da im Verlaufe dieser Versuchsreihen meine Eiweißzersetzung abnahm, was sich am deutlichsten in der sich immer mehr verringernden N-Ausscheidung im Harne zeigt — am 22. Mai 4,099 g, am 5. Juni 3,20 g, am 12. Juni 2,563 g (siehe nachfolgende Protokolle) —, wurde die Menge des angesetzten Fleisches immer mehr vermindert.

Protokoll zu Versuch 2.

20. bis 24. Mai. (Fig. 3.)

	21.	22.	23.	24.
Harnmenge	1810 ccm	2400 ccm	1600 ccm	1640 ccm
Nahrungs-N	1,12 g	1,12 g	1,12 + 5,8 g	1,12 g
Harn-N	4,971 g	4,099 g	4,311 g	4,293 g
Kot-N	2,894 g	2,021 g	1,934 g	1,716 g
Bilanz-N	− 6,74 g	− 6,10 g	+ 0,68 g	− 4,88 g
N im Kot	5,04 %	4,49 %	5,63 %	6,8 %

Protokoll zu Versuch 4.

3. bis 7. Juni. (Fig. 4.)

	4.	5.	6.	7.
Harnmenge	2900 ccm	2370 ccm	1620 ccm	2010 ccm
Nahrungs-N	1,12 g	1,12 g	1,12 + 4,46 g	1,12 g
Harn-N	3,909 g	3,201 g	2,930 g	2,617 g
Kot-N	1,780 g	1,09 g	1,795 g	2,156 g
Bilanz-N	− 4,56 g	− 3,17 g	+ 0,86 g	− 3,64 g
Harn SO_3	0,527 g	0,447 g	0,506 g	0,399 g
N im Kot	4,57 %	5,83 %	6,07 %	5,94 %
Harn SO_3 : N	1 : 7,41	1 : 7,38	1 : 5,79	1 : 6,55

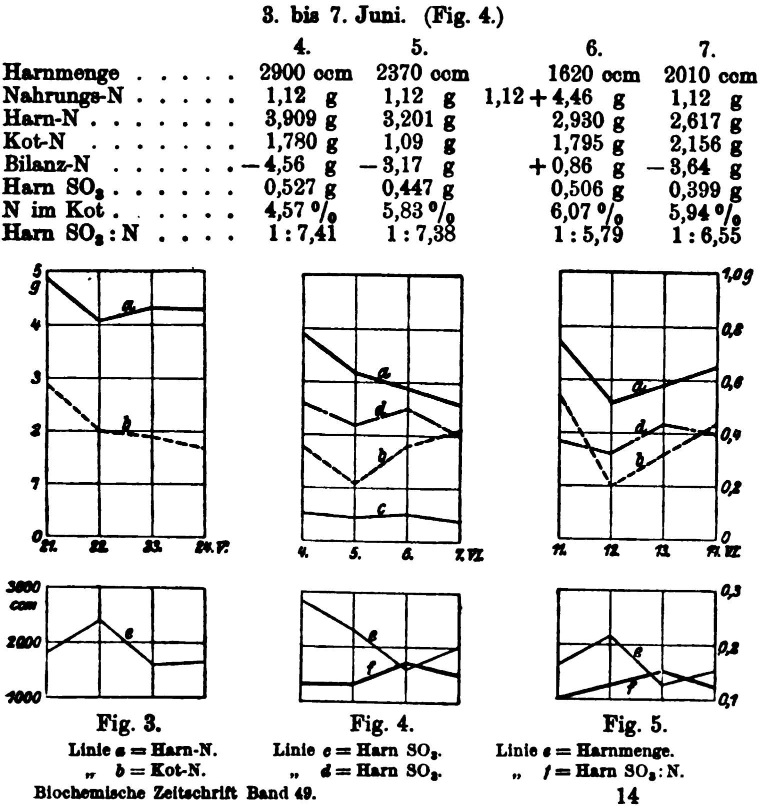


Fig. 3. Linie a = Harn-N. „ b = Kot-N.

Fig. 4. Linie c = Harn SO_3. „ d = Harn SO_3.

Fig. 5. Linie e = Harnmenge. „ f = Harn SO_3 : N.

Protokoll zu Versuch 5.

10. bis 14. Juni. (Fig. 5.)

	11.	12.	13.	14.
Harnmenge	1620 ccm	2280 ccm	1270 ccm	1580 ccm
Nahrungs-N	1,12 g	1,12 g	1,12 + 3,3 g	1,12 g
Harn-N	3,714 g	2,563 g	2,872 g	3,264 g
Kot-N	2,738 g	0,964 g	1,604 g	2,212 g
Bilanz-N	−5,33 g	−2,40 g	−0,05 g	−4,35 g
Harn SO_3	0,372 g	0,336 g	0,445 g	0,401 g
N im Kot	4,99 %	5,14 %	5,89 %	4,67 %
Harn SO_3 : N	1 : 9,98	1 : 7,42	1 : 6,45	1 : 8,14

Die drei Versuchsreihen ergeben, daß das zugesetzte Rindfleisch das verlorengegangene Körpereiweiß vollständig ersetzte. Der Organismus befindet sich an den Ersatztagen im minimalen N-Gleichgewicht. Dieser Erfolg, der nach den Befunden von Thomas zu erwarten stand, beweist, daß meine Versuchsanordnung so eingerichtet war, daß sämtliche dynamogenen Bedürfnisse des Organismus von N-freien Nahrungsmitteln gedeckt waren. Denn wäre das nicht der Fall gewesen, so hätte die Zulage von Eiweiß je am 4. Versuchstage eine vermehrte N-Ausscheidung zur Folge gehabt, weil dann ein Teil des Eiweißes zur Befriedigung des dynamogenen Bedürfnisses zersetzt worden wäre. Ganz im Gegenteil zeigen sogar Versuch 2 und 4 eine ganz geringe positive N-Bilanz. Betrachtet man bloß die N-Ausscheidung im Harn, so ist am Zulagstage in Versuch 2 und 5 eine geringe Zunahme, in Versuch 4 eine geringe Abnahme gegenüber dem Vortage zu beobachten. Im ganzen wird man daher nicht fehlgehen, als Mittel von allen diesen Werten etwa das Gleichgewicht anzusprechen. Meine Versuche bestätigen auch die im Gegensatz zu den älteren Lehren neuerdings vertretene Anschauung, daß mit viel geringeren Eiweißmengen, als der Eiweißzersetzung im Hunger entspricht, N-Gleichgewicht erzielt werden kann. Am 23. Mai und 6. Juni ist der N der Zulage etwas größer, als der negativen Bilanz entspricht. Hieraus mag sich auch die soeben erwähnte kleine positive Bilanz an den beiden Zulagstagen erklären. Es scheint, daß am 6. Juni der N nicht ganz ausgenutzt wurde, da sowohl am 6. wie am 7. Juni der Kot-N im Vergleich zu den Vortagen erheblich angewachsen ist. Die SO_3-Ausscheidung ist jedesmal am Tage der Zulage gestiegen. Wenn die absolute Steigerung auch nicht groß ist, so genügt sie doch, um zu zeigen, daß

die Zersetzung des eingeführten Eiweißes stattgefunden hat. Noch deutlicher tritt dies hervor durch Vergleich des Quotienten $SO_3 : N$, der stets am Zulagstage größer war als an den vorausgehenden. Am Tage nach der Zulage nähert sich der Quotient $SO_3 : N$ wiederum dem früheren Werte, woraus folgt, daß die Folgen der Zulage, soweit sie sich in der SO_3-Ausscheidung abspiegeln können, abgeklungen sind.

Bei allen 5 jetzt erwähnten Versuchen zeigt sich die interessante Tatsache, daß mit jedem neuen Versuch die N-Ausscheidung im Harn immer geringer wird. Verbinden wir in der Tabelle die entsprechenden Tage aller Versuche unter sich, so erhalten wir mit Ausnahme des letzten Nachtages eine abfallende Kurve. Dieses Phänomen ist auch schon Thomas[1]) aufgefallen. Besonders deutlich ist in dieser Hinsicht Versuch 4, wo sogar am Zulagstage die N-Ausscheidung im Harn geringer ist als am Tage vorher, um dann noch weiter zu fallen. In Versuch 5 ist die N-Ausscheidung im Harn am Zulagstage kleiner als am Nachtage. Man könnte sich damit begnügen, zu sagen, der Körper arbeitet bei Eiweißmangel immer sparsamer und zersetzt weniger Eiweiß, folglich wird auch weniger N ausgeschieden. Eine eigentliche Erklärung ist das aber nicht, weil nicht zu erkennen ist, welche Bedingungen das Ausführen des Sparens ermöglichen. Vor allem aber läßt sich aus den Versuchsergebnissen gar nicht folgern, daß tatsächlich die Eiweißzersetzung geringer geworden sei, indem ja an den Zulagstagen die SO_3-Ausscheidung größer ist, dementsprechend also mehr Eiweiß zerlegt worden sein muß. Wie weit diese Zerlegung gegangen ist, darüber läßt sich nichts Genaueres aussagen; jedenfalls sind schwefelhaltige Bausteine abgespalten worden. Es ist ferner auch zu bedenken, daß der Stoffwechsel des Eiweißes nicht unter ein gewisses Minimum sinken kann, zumal bei einer Lebensweise, die ich während der ganzen Periode meiner Versuche geführt habe, eine Lebensweise, die nicht kleine Anforderungen an die körperliche und geistige Leistungsfähigkeit stellte.

Wenn es nun nicht zunehmende Sparung ist, die das weitere Sinken der N-Ausscheidung bedingt, so könnte es viel-

---

[1]) Rubners Arch. 1910, 251.

leicht Wiederbenutzung von Eiweißstoffwechsel-N sein, dergestalt, daß derselbe nicht verloren geht, sondern in einen stickstofffreien Bestandteil eingefügt wird. Diese schon früher gelegentlich postulierte Wiederverwertbarkeit des aus Abbau stammenden N zur Synthese — Pflüger insbesondere hat diese Lehre vertreten — ist dank der neueren oben erwähnten Arbeiten zur Gewißheit geworden. Knoop[1]) schreibt: „Der Tierkörper kann demnach NH_3 unter Bildung von Aminosäuren assimilieren. Können allgemein Aminosäuren aus Oxysäuren, die z. B. beim Abbau der Kohlenhydrate entstehen, gebildet werden, so ließe sich eine Beziehung zwischen Eiweiß und Kohlenhydratstoffwechsel, die bisher nur in der Richtung einer Bildung von Zucker aus Eiweiß als erwiesen gilt, auch in umgekehrter Richtung unter den angeführten Gesichtspunkten chemisch verstehen. Durch intermediäre Bildung oder Verfütterung von geeigneten (N-freien) Säuren könnte abgespaltener N, bevor er der Harnstoffsynthese verfällt, nochmals nutzbar gemacht und das N-Minimum herabgesetzt werden."

Die Arbeiten von Embden und seinen Schülern haben den Nachweis geliefert, daß eine ganze Reihe von im Körper vorkommenden Aminosäuren aus NH_3 und stickstofffreien organischen Säuren synthetisch entstehen können. Da nun in meiner Diät genügend Kohlenhydrate vorhanden sind, um intermediär die nötigen Säuren zu liefern, so ist diese Erklärung der Synthese von Aminosäuren und hierauf von Eiweiß aus dem abgebauten N nicht von der Hand zu weisen. Ja sie nimmt bei meinen Versuchen, wie mir scheint, zwingenden Charakter an, da ohne diese nochmalige Verwendung des N zu synthetischen Prozessen das zunehmende Fallen des Harn-N nicht erklärt werden kann.

Man könnte Bedenken tragen, von einer Synthese von Eiweiß zu reden, wo so wenig Eiweiß zur Verfügung steht. Die Lehren von Rubner sind geeignet, solche Bedenken zurückzudrängen. Denn Rubner[2]) betont, daß beim Eiweiß die Ab-

---

[1]) Knoop, Über den physiologischen Abbau der Säuren und die Synthese einer Aminosäure im Tierkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 489 bis 512.

[2]) M. Rubner, Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zu Wachstum und Ernährung. München und Berlin 1908.

lagerung schon bei Zufuhr kleiner Mengen in Betracht kommt, bei Fett und Kohlenhydrate die Ablagerung erst nach Befriedigung der dynamogenen Aufgabe. Dabei schränkt nach Rubner die Herkunft der Eiweißstoffe ihre physiologischen Funktionen nicht ein, koagulierte wie nichtkoagulierte Körper verschiedener Konstitution, ja auch die vorherige völlige Zertrümmerung hindert ihre Verwendung nicht. Es scheint mir eine nicht unberechtigte Erweiterung des Rubnerschen Gedankenganges zu sein, wenn man die Verwertbarkeit des Eiweißes auch auf diejenige vollständige Zertrümmerung des Eiweißes ausdehnt, die das Körpereiweiß selbst erleidet, wobei natürlich die Voraussetzung besteht, daß die dynamogenen Bedürfnisse durch Kohlenhydrate gedeckt seien. Meine Versuchsresultate können als Beweise für diese Erweiterung angesehen werden.

Zu erwähnen ist noch, daß das superponierte Rindfleisch auf einmal beim Mittagessen aufgenommen wurde. Thomas[1]) erwähnt nämlich, daß einmalige Aufnahme einer gewissen Quantität für den Organismus nicht den Nutzen bringe, wie dieselbe Menge auf mehrere Stunden verteilt. Meine Mengen, 100 g, 68 g, 65 g gekochtes Rindfleisch, scheinen vom Organismus gut auf einmal vertragen worden zu sein, ohne daß er genötigt war, den Großteil des N sogleich auszuscheiden. Thomas hat mit fraktionierter Zufuhr positive Bilanz erzielt, während eine gleiche Menge auf einmal eine negative N-Bilanz ergab; er gibt ferner an, daß längere Zeit Rindfleisch dies minimale Gleichgewicht nicht halten könne, auch bei sorgfältig fraktionierter Zufuhr von ausgewaschenem Rindfleisch, aus dem die Extraktivstoffe entfernt sind. Die eingangs erwähnte Bedeutung des Kot-N macht es mir unmöglich, aus meinen Zahlen zu berechnen, wieviel N des aufgenommenen Eiweißes am ersten und wieviel erst am zweiten Tage ausgeschieden wurde.

Ersatz der Abnutzungsquote durch Ovalbumin.

In der darauffolgenden Versuchsreihe wurde am Zulagstag die Abnutzungsquote durch Ovalbumin zu ersetzen gesucht. In diesem Versuch nahm ich am 4. Versuchstag mittags in

[1]) Rubners Arch. 1910.

einer Aufschwemmung 30 g Ovalbumin zu mir, das 3,44 g N enthielt. Es gehört nach Falta zu den langsam sich zersetzenden Eiweißkörpern, er ordnet nach seinen Untersuchungen die Eiweißkörper ihrer Zersetzlichkeit nach folgendermaßen: a) Leim, Casein, Serumalbumin, Fibrin; b) Blutglobulin; c) Hämoglobin; d) Ovovitellin, gemeines Ovalbumin.

Ovalbumin wäre demnach ein ganz besonders schwer zersetzlicher Körper. Faltas Klassifikation beruht zwar wesentlich auf der Länge der Zeit, nach der bei Superposition von größeren Mengen der Eiweißstoffe der gesamte Stickstoff derselben ausgeschieden wird. Auch ist dasjenige, was Falta unter Zersetzlichkeit versteht, etwas Komplexes. Trotzdem darf auch bei meiner Versuchsanordnung das Ovalbumin als ein schwer zersetzlicher Eiweißkörper gelten, weil es durch Trypsin schwer spaltbar ist, vom Pepsin zwar anfänglich rasch gespalten wird, im weiteren aber von Pepsinsalzsäure schwer angegriffen wird.

Protokoll zu Versuch 6.

17. bis 21. Juni. (Fig. 6.)

	18.	19.	20.	21.
Harnmenge	1950 ccm	1400 ccm	1370 ccm	1370 ccm
Nahrungs-N	1,12 g	1,32 g	1,12 + 3,44 g	1,12 g
Harn-N	3,920 g	3,185 g	2,830 g	2,857 g
Kot-N	2,066 g	1,855 g	1,557 g	1,440 „
Bilanz-N	− 4,86 g	− 3,61 g	+ 0,18 g	− 3,17 g
Harn SO_3	0,394 g	0,442 g	0,606 g	0,578 g
N im Kot	5,09 %	4,83 %	7,5 %	5,8 %
Harn SO_3 : N	1 : 9,92	1 : 7,20	1 : 4,67	1 : 4,94

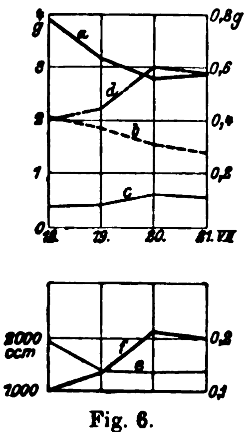


Fig. 6.

Es zeigt sich bei dieser Versuchsreihe das gleiche Verhalten wie in den Fleischversuchen, wir erhalten am Zulagstag bei weiter verminderter N-Ausscheidung im Harn eine kleine positive Bilanz, ein minimales N-Gleichgewicht mit 4,56 g N. Am Nachtag ist die N-Ausscheidung nur um einen so ganz geringen Wert gestiegen, daß man von Gleichheit mit dem vorangehenden Tage sprechen kann, und der N-Wert ist geringer als am Tage vor der Zulage. Ovalbumin vermag demnach ebensogut wie das Eiweiß

des Fleisches die Abnutzungsquote des Körpereiweißes zu decken, und man kann daher sagen, daß die biologische Wertigkeit beider Eiweiße gleichgroß ist. Das ist schon insofern bemerkenswert, als beide Eiweißstoffe nach den bisher vorliegenden Angaben Unterschiede aufweisen; z. B. enthalten 100 g Syntonin aus Rindfleisch 2,66 g Histidin[1]), während unter den Spaltungsprodukten des krystallisierten Ovalbumins Histidin vermißt wurde[2]). Die Unabhängigkeit von der Zusammensetzung des Eiweißstoffes tritt um so schärfer hervor, als es sich nur um geringe Mengen eingeführten Materials handelt.

Ehe weitgehende Folgerungen aus dem Versuche mit Rücksicht auf meine spezielle Fragestellung gezogen werden können, muß untersucht werden, ob Anhaltspunkte dafür gegeben sind, daß die Zersetzung des Ovalbumins in diesem Versuche verlangsamt sei. Das Verhalten der N-Ausscheidung gibt allerdings keinen Anhaltspunkt, denn am Nachtage ist die N-Ausscheidung immer noch geringer als am Vortage. Hingegen spricht die Art der SO_3-Ausscheidung dafür. Denn nicht allein ist am Zulagstage die SO_3-Menge im Harn stark angestiegen, woraus die Umsetzung des eingeführten Ovalbumins hervorgeht, sondern auch am Nachtage ist die SO_3 noch fast ebenso groß. Fast noch deutlicher spricht sich das in dem Quotienten $SO_3 : N$ aus, die an den beiden Vortagen 1 : 9,92 und 1 : 7,20 ist, während er am Zulage- und Nachtage 1 : 4,67 und 1 : 4,94 beträgt. In den Versuchen der Fleischreihe strebt der Quotient stets wieder den Werten an den Vortagen zu. Daraus darf geschlossen werden, daß bei Verfütterung von Ovalbumin der Stoffwechselvorgang, der am Zulagetage eingeleitet wurde, am Nachtage noch nicht abgeklungen ist, während das nach Einnahme von Fleisch der Fall war. Es geht also aus meinem Versuche hervor, daß auch bei so geringfügigen Ovalbuminmengen, wie sie zum Ersatz der Abnutzungsquote nötig sind, und nicht bloß bei Superposition größerer Mengen, die langsame Zersetzlichkeit nachweisbar ist. Deshalb darf auch angenommen werden, daß die langsame Zersetzlichkeit im Magendarmkanal zum Ausdruck gelangt, wenn sie nicht überhaupt dort ausschließlich ihren Sitz hat.

Welche Bedeutung für den Mechanismus des tatsächlich

---

1) C. Hart, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 347, 1901.

2) Hygouneng und Galimard, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc.

in der Reihe sowohl der Fleisch- wie der Ovalbuminversuche stattgehabten N-Gleichgewichts- (beziehentlich sehr kleine positive Bilanz) oder Eiweißsynthese hat die verschiedene Zersetzlichkeit der beiden Eiweißkörper? Gehen wir von der Annahme aus, daß alles Eiweiß bis zu Peptiden und Aminosäuren gespalten wird, so würden bei dem leicht zersetzlichen Fleisch alle Endspaltprodukte gleichzeitig auftreten und gleichzeitig den Zellen der Darmschleimhaut dargeboten werden. In dieser Hinsicht stände einer ausschließlichen Synthese in der Darmschleimhaut zu indifferentem Bluteiweiß nichts im Wege. Anders beim Ovalbumin. Auch dieser Körper enthält leicht abspaltbare Bausteine neben dem schwer spaltbaren Kern. Das Auftreten der einzelnen Bausteine ist zeitlich durchaus auseinanderliegend, und da die absoluten Mengen sehr gering sind, kann der zeitliche Unterschied nicht durch Verschiebung infolge der Mengenverhältnisse ausgeglichen werden. Wenn trotzdem sowohl bei Fleisch als auch bei Ovalbumin im Organismus eine Synthese des Eiweißes der Abnutzungsquote eintrat, so kann diese Synthese nicht aus den Bausteinen des Nahrungseiweißes in der Darmschleimhaut stattgefunden haben. Das Ergebnis dieser Überlegungen ist, daß die Tatsachen gegen eine ausschließliche Synthese in der Darmschleimhaut zu Bluteiweiß sprechen. Hingegen steht nichts der schon in der Arbeit von A. Loeb geäußerten Annahme im Weg, daß auch in den Zellen der Darmschleimhaut Eiweißsynthese stattfindet unter Beihilfe von Material, das nicht dem Nahrungseiweiß entstammt. Es könnte der Einwand geltend gemacht werden, daß zwar die Spaltung der beiden Eiweißkörper verschieden schnell vor sich gehe, trotzdem aber die Resorption der verschieden weit gespaltenen Bausteine gleich schnell geschehe. Dann würde nichtsdestoweniger wiederum in beiden Fällen die Synthese ganz anders sein, da der Darmschleimhaut die Fähigkeit zugeschrieben werden müßte, aus ganz anders gearteten Bausteinen Eiweiß aufzubauen.

Allen diesen Schwierigkeiten geht man aus dem Wege und gelangt zu einer einfacheren Erklärung der Tatsachen, wenn die Annahme gemacht wird, daß die Eiweißsynthese des durch den Verdauungskanal vorbereiteten Nahrungseiweißes zum Teil an anderen Orten als in der Darmschleimhaut geschieht.

Ersatz der Abnutzungsquote durch Casein.

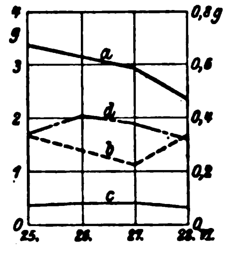
In der nächsten Versuchsreihe benutzte ich zum Ersatz ein reines nach Hammarsten dargestelltes Casein (bezogen von der Firma Trommsdorf & Co.). Casein ist bekanntlich ein sehr leicht spaltbarer Eiweißkörper. Auch in den Versuchen von Falta tritt die rasche Zersetzung des Caseins deutlich zutage.

Protokoll zu Versuch 7.

24. bis 28. Juni. (Fig. 7.)

	25.	26.	27.	28.
Harnmenge . .	1640 ccm	2340 ccm	1300 ccm	850 ccm
Nahrungs-N .	1,18 g	1,12 g	1,12 + 3,356 g	1,12 g
Harn-N . . .	3,359 g	3,154 g	2,948 g	2,334 g
Kot-N	1,678 g	2,375 g	1,100 g	1,667 g
Bilanz-N . . .	— 3,85 g	— 4,41 g	+ 0,43 g	— 2,88 g
Harn-SO_3 . .	0,348 g	0,401 g	0,383 g	0,315 g
N im Kot . .	4,42 %	4,54 %	4,69 %	5,44 %
Harn SO_3 : N .	1 : 9,65	1 : 7,86	1 : 7,69	1 : 7,41

Dieser Versuch mit Zulage von 26 g Casein am 4. Tage ist der schönste der ganzen Reihe, was die Erzielung eines minimalen N-Gleichgewichts anbetrifft. Die Resorption scheint, da weder prozentual noch absolut eine Vermehrung des Kot-N zu konstatieren ist, vollständig vor sich gegangen zu sein. Casein ist schwefelarm, dementsprechend zeigt auch die Ausscheidung keinen Einfluß auf die SO_3-Zahlen des Harns, auch nicht im Quotienten SO_3 : N.



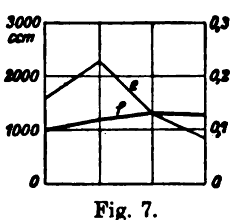


Fig. 7.

Der glatte Ersatz des Eiweißminimums durch Casein ist insofern bemerkenswert, als die Zusammensetzung des Caseins von derjenigen der Bluteiweißkörper abweichend ist, abweichender als diejenige des Ovalbumins und der Eiweißkörper des Fleisches. Würde bei Einnahme von Eiweiß in derjenigen Menge, die dem Eiweißminimum entspricht, die Ersatzmöglichkeit darauf beruhen, daß erst die Bausteine desselben von Darmschleimhaut zu Bluteiweiß regeneriert würden, so böte die Zusammensetzung von Casein wohl einige Schwierigkeiten. Deshalb erscheint mir der Erfolg

des Caseinversuchs wiederum eher zugunsten der Synthese auch außerhalb des Darmes zu sprechen. Daß Casein, der Haupteiweißkörper der Milch, sich als Ersatz des Eiweißminimums so günstig erweist, steht ganz im Einklang mit der von Rubner und Heubner als biologisch wichtig erkannten Tatsache, daß gerade die Milch mit ihrer geringen Menge an Eiweiß befähigt ist, Eiweißansatz zu erzielen.

Bei der schnellen Zersetzung des Caseins erfolgt am Zulagstage ein prompter Ersatz der Abnutzungsquote ohne Erhöhung der N-Ausfuhr. Am Nachtage fällt die Harn-N-Ausscheidung weiterhin stark, was zum Teil vielleicht auf Retention infolge starken Wassermangels zurückzuführen ist bei der niedrigen Harnmenge von nur 850 ccm; sicher ist dies jedoch nicht, da im allgemeinen in meinen Versuchen zwischen Harnmenge und N kein Zusammenhang besteht. Die Menge von 2,33 g N im Harn während 24 Stunden ist die niedrigste meiner sämtlichen Versuche, sie kommt mit 0,041 g N pro Kilogramm Körpergewicht den niedrigsten Werten von Landergren gleich.

Daß gerade bei dem so schnell zur Zersetzung gelangenden Eiweißkörper die N-Ausscheidung noch weiterhin fällt, ist für mich wieder ein Grund, anzunehmen, daß ein Teil des abgespaltenen N wieder zu Aminosäuren und darauf zu Eiweiß synthetisiert wird. Man kann für diese Annahme aus einer rechnerischen Verwertung der Resultate von Falta eine weitere Stütze gewinnen. Aus seinen Versuchen geht nämlich hervor, daß vom Casein am ersten Tage 60 bis 70 %, am zweiten 30 bis 40 % des N zur Ausscheidung gelangen. Nehme ich an, daß der N der Standarddiät immer während 24 Stunden ausgeschieden wurde, also 1,12, und addiere dazu 65 % des Casein-N, so erhalte ich $1,22 + 2,18 = 3,30$, d. h. einen Wert, der höher ist, als der Harn-N am ersten Tage beträgt. Es ist gleichgültig, ob wir annehmen, dieser N komme sofort zur Ausscheidung oder er diene zum Ersatz der Abnutzungsquote, das letztere wird in diesem Falle zutreffen. Da wir aber wissen, daß ein Überschuß an Vorratseiweiß sofort ausgeschieden wird, was hier bei dem niedrigen Harn-N nicht der Fall sein kann, so sind wir gezwungen, anzunehmen, daß ein Teil des N, der überflüssig zersetzt worden ist, wieder synthetisch Verwendung gefunden hat; denn das zersetzte Casein

übertrifft ja die Abnutzungsquote um 0,35 g N, und auch für den folgenden Tag können wir die niedrige Harn-N-Ausscheidung kaum anders erklären; sie beträgt 2,33 g. Casein-N wird ausgeschieden ca. 35 % = 1,175, ferner enthält die Diät ca. 1,12 g, vom Vortage sind noch 0,35 g übrig, Summa 2,64 g, also ein Plus von 0,3 g N, das wohl wieder synthetische Verwendung findet oder die Darmabnutzungsquote ersetzend im Kot abgeht.

Ich habe bei meiner Berechnung den Faltaschen Wert der Ausscheidung mit demjenigen der Zerlegung gleich gesetzt. Daß diese Werte im großen ganzen zusammenfallen, ist wohl die Ansicht der meisten Autoren auf diesem Gebiete. Wenn die Annahme richtig ist, daß ein Teil des durch Zerlegung frei gewordenen N zur Synthese wieder benutzt wird, können die Zahlen, absolut genommen, nicht richtig sein. Für die eben angestellten Erwägungen ist jedoch nur erforderlich, daß die Verhältnisse angenähert zutreffend seien.

Schließlich sei auf die methodische Bedeutung der Tatsache hingewiesen, daß am Nachtage im Versuch 7 die N-Ausscheidung im Harn geringer ist als am Zulagstage, im Versuch 5 fast gleich und jedenfalls geringer als am Tage vor der Zulage. Es geht nämlich mit Sicherheit daraus hervor, daß die Abnahme der N-Ausscheidung am Zulagstage nicht auf einem zufälligen Unterbleiben beruhe, und daß der Eintagsversuch ein getreues Bild der Vorgänge gibt. Wäre es anders, so müßte am Nachtage die Ausscheidung ansteigen. Durch einen späteren eigens angestellten Versuch wird die Richtigkeit dieser Behauptung erwiesen.

Ersatz der Abnutzungsquote durch Hämoglobin.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde zum Ersatz der Abnutzungsquote Hämoglobin verwandt. Es unterscheidet sich in mancherlei Beziehung von den bisher gebrauchten Eiweißkörpern. Das Globin, der Eiweißbestandteil des Hämoglobins, ist durch seinen hohen Gehalt an basischem N, insbesondere in Form von Histidin, ein den Histonen nahestehender Körper. Auch der Gehalt an Glutaminsäure ist nach Abderhaldens[1]) Bestimmungen viel geringer als in den Bluteiweißkörpern.

[1]) E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 484, 1903.

Was die Zersetzlichkeit anbelangt, so gehört nach Falta das Hämoglobin zu den schwer zersetzlichen Eiweißkörpern. Hingegen läßt Schulz dasselbe für Pepsin und Trypsin ungewöhnlich leicht verdaulich sein, wogegen Cohnheim, der es für Erepsin unangreifbar fand, einwendet, daß dies mit dem geringen Gehalt an Tyrosin, dem hohen an Phenylalanin nicht übereinstimmt. Meine eigenen Versuche ergeben unter Berücksichtigung der Kot-N-Zahlen, daß Hämoglobin im Organismus zu den schwer verdaulichen Eiweißkörpern gehören muß.

Etwa 10 % in maximo des im Hämoglobin enthaltenen N ist nicht Eiweißstickstoff. Schon aus diesem Grunde muß eine größere Menge Hämoglobin genommen werden, als der zu ersetzenden N-Menge entspricht. In den beiden nachfolgenden Versuchen ist erst in Versuch 9 der maximale Wert von 10 % voll in Anrechnung gebracht.

Protokoll zu Versuch 8.

1. bis 5. Juli. (Fig. 8.)

	2.	3.	4.	5.
Harnmenge . .	2830 ccm	2970 ccm	1640 ccm	1710 ccm
Nahrungs-N .	1,12 g	1,12 g	1,12 + 3,392 g	1,12 g
Harn-N . . .	3,415 g	2,727 g	3,772 g	3,717 g
Kot-N	1,815 g	2,197 g	0,960 g	1,738 g
Bilanz-N . . .	— 4,11 g	— 3,80 g	— 0,22 g	— 4,33 g
Harn-SO_3 . .	0,466 g	0,336 g	0,461 g	0,475 g
N im Kot . .	4,65 %	4,64 %	3,47 %	5,39 %
Harn SO_3 : N .	1 : 7,33	1 : 8,11	1 : 8,18	1 : 7,82

Protokoll zu Versuch 9.

8. bis 12. Juli. (Fig. 9.)

	9.	10.	11.	12.
Harnmenge . .	2120 ccm	1640 ccm	820 ccm	950 ccm
Nahrungs-N .	1,12 g	1,12 g	1,12 + 3,908 g	1,12 g
Harn-N . . .	3,353 g	2,826 g	2,879 g	3,468 g
Kot-N	2,005 g	1,923 g	2,459 g	1,091 g
Bilanz-N . . .	— 4,23 g	— 3,62 g	— 0,31 g	— 3,43 g
Harn-SO_3 . .	0,422 g	0,484 g	0,664 g	0,401 g
N im Kot . .	4,31 %	4,77 %	5,94 %	5,63 %
Harn SO_3 : N .	1 : 7,94	1 : 5,84	1 : 4,33	1 : 8,64

Im Versuch 8 wurden 25 g Hämoglobin (Merck), im Versuch 9 29 g superponiert. Es gelang nicht, in befriedigender Weise ins N-Gleichgewicht zu kommen. Im ersten Versuche erfolgt sogleich am Zulagstage eine beträchtliche (+ 1 g) Steigerung des Harn-N, der sich am Nachtage auf derselben Höhe hielt. Im zweiten Versuche trat diese Steigerung erst am

Nachtage auf. Eine merkliche Änderung des SO_3 im Harn ist bei der Schwefelarmut des Hämoglobins nicht zu erwarten. Nur im zweiten Versuche zeigte sich am Ersatztage eine Steigerung sowohl absolut als auch im Quotienten $SO_3 : N$. Hämoglobin zeigt nach Falta eine ziemlich langsame Zersetzung, doch etwas rascher als Ovalbumin. Demnach sollte man glauben, daß Hämoglobin eine Mittelstellung zwischen Casein und Ovalbumin, auch in bezug auf das minimale N-Gleichgewicht, einnehmen würde. Dies trifft jedoch, wie wir gesehen haben, durchaus nicht zu. Derjenige N, der nicht Eiweißstickstoff ist, wird wohl sofort ausgeschieden werden, ohne als Ersatz der Abnutzungsquote in Betracht kommen zu können, und er wird gleichzeitig durch Erhöhung des Harn-N die Bilanz ungünstiger gestalten. Die Resorption scheint keine vollständige gewesen zu sein, der Kot zeigt am Zulagstage des Versuches 9 einen besonders hohen Wert, während außerdem seine intensiv schwarze Färbung vermuten ließ, daß ein Teil des Hämoglobins den Darm unausgenützt verlassen habe.

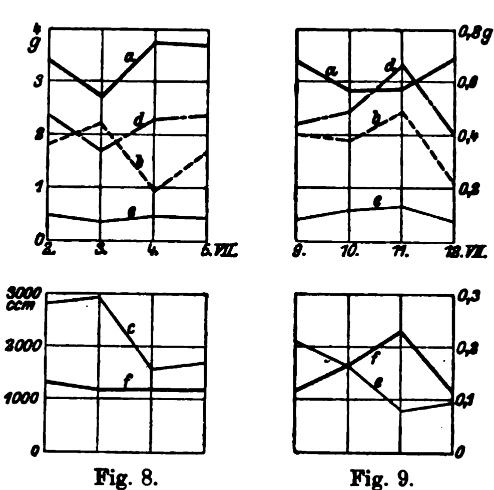


Fig. 8. Fig. 9.

Treten wir nun noch auf die Ausnützung des resorbierten N etwas ein. In Versuch 8 wurden 3,392 g Hämoglobin-N aufgenommen. 10 %, also 0,339 g, könnten sofort ausgeschieden werden. Nach Falta ferner kommen am ersten Tage 41 % zur Ausscheidung, diese berechne ich nun vom wirklichen Eiweiß-N, also von 3,051 = 1,250 g; am zweiten Tage 43 % = 1,311 g. Im Urin waren am ersten Tage 3,772 g, am zweiten 3,717 g; damit läßt sich bei meinen Versuchsbedingungen, die einen andern Zweck im Auge haben, nichts aussagen. Auch darf nicht vergessen werden, daß ich für meine Versuche das, was Falta als Ausscheidungsgeschwindigkeit bezeichnet, als bloße

Zersetzungsgeschwindigkeit auffasse. Das zersetzte Eiweiß wird ja wohl nicht sogleich ausgeschieden werden können, wenn es als Ersatz der Abnutzungsquote zu Körpereiweiß synthetisiert wird. In Versuch 9 wurden 3,908 g Hämoglobin-N aufgenommen. 10 % sofort ausgeschieden 0,390 g + 41 % von 3,518 = 1,442 g zersetzt ergibt für den Zulagstag folgende Ausscheidung: 0,39 + 1,442 + 1,12 = 2,842 g, im Urin: 2,872 g, was annähernd der theoretischen Berechnung gleichkommt, wenn wir annehmen würden, daß anstatt der 1,442 g N aus den zersetzten 46 % des Hämoglobins ebensoviel N der Abnutzungsquote im Harn erscheint. Am Nachtage 43 % = 1,512 g N vom Hämoglobineiweiß, im Harn 3,468 g. Die langsame Zersetzung des Hämoglobins mit ihren Folgen kann nicht der Grund sein, daß Hämoglobin das minimale N-Gleichgewicht nicht herstellen kann, denn bei Ovalbumin bewirkte dies keine Störung. Im Gegenteil ist zu erwarten, daß eine kleine Verzögerung der N-Ausscheidung resp. Zersetzung des Eiweißes, wenn eine etwas zu hohe Eiweißmenge für den augenblicklichen Bedarf gereicht wird, den Harn-N doch nicht vermehren wird, da der N nicht auf einmal zur Ausscheidung kommen kann. Eine bedeutende Störung aber können diese 10 % unausnützbarer N hervorrufen, nämlich insbesonders dann, wenn, um die nötigen Mengen brauchbaren N einzuführen, die Hämoglobinmenge derart vermehrt werden muß, daß auch der unnütze N bedeutend zunimmt. Ich habe vorhin angenommen, daß diese 10 % sofort ausgeschieden werden, es ist dies aber eine bloße Annahme unter der Idee, daß im allgemeinen der Organismus für Stickstoff keine Vorratskammer hat. Ein späterer Versuch ergibt, daß auch im Kot eine merkliche Steigerung des N, wie vorhin vermutet, auftritt. Auch Falta erwähnt eine ziemlich schlechte Resorption: 25 % unausgenützt. Die angeführten Gründe scheinen mir aber zusammen noch nicht vollständig, das von den andern Eiweißkörpern (Fleisch, Casein, Ovalbumin) so durchaus abweichende Verhalten zu erklären. An die Histonnatur des Globins muß auch gedacht werden. Um freilich eine bestimmte Erklärung aus der chemischen Zusammensetzung des Globins ableiten zu können, müßten wir mehr über den intermediären Abbau der Eiweißkörper wissen. Gerade die rechnerischen Versuche, die ich über die Ausnützung

des Hämoglobins-N anstellte, zeigen mit aller Deutlichkeit, wie sehr die sicheren Grundlagen noch fehlen. Die Frage des minimalen N-Gleichgewichts ist eine äußerst schwierige und wird um so komplizierter, je weitere Untersuchungen wir anstellen.

Das Ergebnis meiner Hämoglobinversuche lehrt, daß, wenn ein Eiweißkörper die Voraussetzungen nicht erfüllt, um die Abnutzungsquote von Eiweiß vermittelst der an N annähernd gleichen Menge zu ersetzen, dies in meiner Versuchsanordnung prompt zum Ausdruck gelangt. Das negative Ergebnis mit Hämoglobin dient demnach als Stütze für die früheren positiven Ergebnisse. Wenn auch Hämoglobin nicht so vollwertig ist wie Fleisch, Ovalbumin und Casein, so ist es doch deutlich eiweißsparend. Diese Eigenschaft des Hämoglobins ist deshalb von Interesse, weil täglich eine gewisse Menge von Hämoglobin zerlegt wird, so daß das freigewordene Globin in den Stoffwechsel des Organismus einbezogen werden kann.

Mehrtägiger Ersatz der Abnutzungsquote durch Ovalbumin und Hämoglobin.

Da wir im vorhergehenden konstatiert haben, daß zwischen dem Verhalten von Ovalbumin und Hämoglobin in bezug auf das minimale N-Gleichgewicht eine merkliche Verschiedenheit besteht, so war es geboten zu untersuchen, ob dieses Verhalten auch während mehrere Tage andauernder Eingabe der Eiweißkörper sich finde. Dabei war vor allem interessant zu erfahren, ob das beim Ovalbumin erreichte minimale N-Gleichgewicht bei einmaliger Superponierung sich bei mehrmaliger während mehrerer Tage aufrechterhalten ließe. Vom Hämoglobin stand zu erwarten, daß es auch bei mehrtägiger Einnahme weniger als Ovalbumin leisten würde.

Protokoll zu Versuch 10.

15. bis 19. Juli. (Fig. 10.)

	17.	18.	19.
Harnmenge . .	1260 ccm	1670 ccm	1210 ccm
Nahrungs-N . .	1,12 + 3,44 g	1,12 + 3,44 g	1,12 + 3,44 g
Harn-N	3,704 g	2,992 g	2,625 g
Kot-N	3,925 g	3,489 g	2,666 g
Bilanz-N . . .	— 2,86 g	— 1,92 g	— 0,73 g
Harn-SO_3 . . .	0,731 g	0,630 g	0,544 g
N im Kot . . .	7,91 %	8,9 %	7,52 %
Harn SO_3 : N .	1 : 5,06	1 : 4,65	1 : 4,64

Die Versuche erstrecken sich wie die früheren über eine 5tägige Periode. Es wurden aber außer der Standarddiät 30 g Ovalbumin (3,44 g N) mittags in einer Aufschwemmung eingenommen. Die Analysen setzen mit dem 3. Tage ein.

Der Harn-N zeigt ein schönes, regelmäßiges Abfallen, noch schöner als im Eintagsversuch. Es wäre also zu erwarten, daß eine kleine positive Bilanz wenigstens für 2 Tage ein minimales N-Gleichgewicht demonstrieren würde. Die SO_3-Mengen sind entsprechend dem Schwefelgehalt des Ovalbumins ziemlich hoch, zeigen aber auch einen regelmäßigen Abfall. Der Quotient $SO_3 : N$ entspricht durchweg dem des Zulage- und Nachtages bei einmaliger Aufnahme von Ovalbumin. Die Erwartungen in betreff der Bilanz werden aber durch überaus hohe Werte von Kot-N zunichte gemacht. Wie ist dieses Verhalten nun zu erklären? Ich glaube nicht, daß die geringfügige Menge Eiweiß die ohnehin schon stark angeregte Sekretion des Darmes noch weiter beeinflußt habe, sondern schreibe dieses Plus des Kot-N einfach der mangelhaften Resorption des Ovalbumins zu. Wie wir gesehen haben, liegt der Grund für die verschiedene Ausscheidungsgeschwindigkeit, wie **Falta** sagt, oder Zersetzlichkeit, wie wir den Begriff hier gebrauchen, der einzelnen Eiweißkörper vielleicht schon in einer ungleichen Resistenz gegenüber der Magendarmverdauung und einer dadurch qualitativ verschiedenen Resorption. Dies scheint mir eine leichte Erklärung für die Steigerung des Kot-N zu bieten. Denn wir können uns leicht vorstellen, daß bei einer so reichlichen Kohlenhydratnahrung, wie sie meine Diät darstellt, die den Darm sehr stark in Anspruch nimmt, das schwer aufspaltbare Eiweiß zum Teil den Darm vollständig passieren wird. Von dem nur langsam den Verdauungssäften erliegenden Ovalbumin wird von Gärungs- und Sekretmassen des Darmes, der durch die überreiche Nahrung anfängt überlastet zu werden, ein Teil des N, die schwer angreifbaren Kerne, einfach weggeschwemmt und erscheint im Kot.

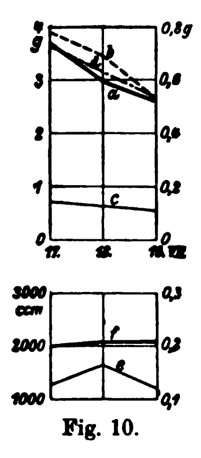


Fig. 10.

Falta macht über die Ausscheidung des Ovalbumins folgende Angaben: Mittelzahlen: 1. Tag 25 %, 2. Tag 35,6 %, 3. Tag 20 %, 4. Tag

8,9,$^0/_0$, 5. Tag 8$^0/_0$. Er glaubt ferner, daß ca. 25 bis 30$^0/_0$ unausgenutzt bleiben. Nehmen wir auch für diesen Versuch diese Gesetzmäßigkeit an, so würde, wenn wir von der Abnutzungsquote gänzlich absehen, über die Zusammensetzung des täglich zur Ausscheidung gelangenden N folgendes hervorgehen:

1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
g	g	g	g	g
1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
0,675	0,843	0,482	0,216	0,192
1,795	0,675	0,843	0,482	0,216
	2,638	0,675	0,843	0,482
		3,120	0,675	0,843
			3,336	0,675
				3,528

Dem entsprechen folgende Kot- und Harn-N-Zahlen:

Harn-N:	3,704 g	2,992 g	2,625 g
Kot-N:	3,925 g	3,489 g	2,666 g

Aus dieser, wie ich zugeben muß, zwar willkürlichen Zusammenstellung scheinen mir doch einige Gesetzmäßigkeiten hervorzugehen, die für die Erklärung des Versuchs von Bedeutung sind. Ich habe angenommen, daß 30$^0/_0$, d. h. 1,023 g N des aufgenommenen Ovalbumin-N im Kot erscheinen; dieser würde sonst einen normalen N-Gehalt besitzen. Nach den Tabellen, die oben berechnet sind, sollte die Harn-N-Ausscheidung infolge der Summation der verzögerten Ausfuhrreste erhöht werden; sie fällt aber in meinem Versuche ab. Wie ist das wohl zu erklären? Erstens kann man sich vorstellen, daß bei der geringen Menge N, die in meinem Versuche verwendet wurde, die Verzögerung nicht in so großem Maße stattgefunden hat, wie ich nach den Resultaten Faltas zugrunde legte. Ich nehme an, daß der in der Berechnung zur Ausscheidung kommende N als Vorratseiweiß vorhanden ist und als solches zur Deckung der Abnutzungsquote Verwendung finden kann. Da gegen Schluß des Versuches der Harn-N fällt, wird höchstwahrscheinlich durch das zunehmende Vorratseiweiß die Abnutzungsquote vollständig ersetzt, und der Überschuß wird, anstatt durch Ausscheidung den Harn-N zu vermehren, vom Organismus wieder synthetisch verwendet und ermöglicht derart ein weitergehendes Fallen des Harn-N. Auch der Kot-N ist deutlich im Fallen begriffen, vielleicht daß eine gewisse Ge-

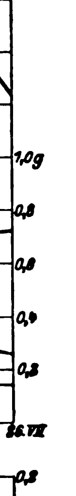
wöhnung eine bessere Ausnützung des Ovalbumins zur Folge hat. Sicheres läßt sich darüber nicht aussagen. Der Versuch macht nur glaubhaft, daß bei noch längerem Fortsetzen der Diät + Ovalbuminzulage positive Bilanzen erhalten werden könnten; denn es ist kein Grund anzunehmen, daß die fallende Tendenz des Harn-N sich ändern würde, und auch die Ausnützung des Ovalbumins deutet auf Besserung hin, so daß das störende Moment von seiten des Kotes vollständig wegfallen würde.

Protokoll zu Versuch 11.

22. bis 26. Juli. (Fig. 11.)

	24.	25.	26.
Harnmenge . .	1100 ccm	1670 ccm	560 ccm
Nahrungs-N . .	1,12 + 3,908 g	0,8 + 3,908 g	0,8 + 3,908 g
Harn-N	5,670 g	7,668 g	6,238 g
Kot-N	2,237 g	1,512 g	1,356 g
Bilanz-N . . .	— 2,88 g	— 4,57 g	— 2,88 g
Harn-SO_3 . . .	0,426 g	0,710 g	0,723 g
N im Kot . . .	6,51 %	5,09 %	7,33 %
Harn-SO_3 : N .	1 : 13,31	1 : 10,8	1 : 8,62

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei Versuch 10. Zur täglichen Diät wurden 29 g Hämoglobin (3,908 g N) superponiert. Analysiert wurde erst vom 3. Versuchstage an.



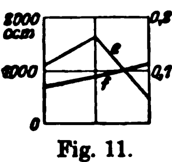


Fig. 11.

Von einem minimalen N-Gleichgewicht ist in diesem Versuch keine Rede, was ja auch nach dem Resultate der beiden Eintagszulageversuche zu erwarten war. Der Kot deutet in den $^0/_0$ N auf eine etwas schlechte Ausnützung des Hämoglobins hin. Im übrigen mögen die überaus hohen N-Zahlen zum Teil wenigstens durch das gestörte Allgemeinbefinden etwas erklärt werden: Vom 19. bis 21. Juli hatte ich einen starken Katarrh, der am 20. zu einer Angina mit 38,5° Fieber wurde, darauf gingen die Krankheitserscheinungen rasch zurück. Aber ein leichtes Unwohlsein hielt doch während des ganzen Versuches an und äußerte sich hauptsächlich in einer großen Mattigkeit und einer immer zunehmenden Abneigung gegen die Versuchs-

kost. Schon während der letzten Wochen waren mir die reichlichen Mengen des Puddings zeitweise sehr lästig gefallen. Aber jetzt wurde die Kost geradezu ekelerregend, besonders die alltägliche Zulage des übelschmeckenden Hämoglobins vermehrte nur die Schwierigkeit, die ich bei der Aufnahme der Nahrung hatte. Nach dem Essen stellte sich regelmäßig ein starker Druck in der Magengegend und Aufstoßen ein. Am 23. mußte ich die Kost um die Hälfte des Zwetschenquantums vermindern, fortwährend hatte ich Brechreiz. Am letzten Versuchstage, als ich zur Erholung einen längeren Spaziergang gemacht hatte, konnte ich abends nur mit größter Anstrengung etwas zu mir nehmen, das ich aber nach $^1/_2$ Stunde wieder erbrechen mußte. Hand in Hand mit diesen Störungen ging eine rapide Körpergewichtsabnahme: am 23. Juli 57 kg (das bisherige Mittel), 27. Juli morgens 54,8 kg. Daraufhin brach ich die Versuche ab. Das Allgemeinbefinden wurde sofort wieder normal, am 2. August war das Körpergewicht wieder 58 kg. Die Abneigung gegen die Versuchskost erlaubte mir aber weitere Untersuchungen nicht. Während der letzten Versuche brauchte ich folgende Medikamente: 19. Juli abends 0,5 g Aspirin, scheint auf den letzten Tag des Ovalbuminversuchs nicht störend eingewirkt zu haben. 23. Juli abends 0,5 g Natr. salicyl. 25. Juli abends 0,5 g Natr. salicyl. Vielleicht, daß die die anderen hohen Werte noch überragende Harn-N-Ausscheidung vom 25. Juli (7,668 g N) auf das Salicyl zurückzuführen ist.

Der Versuch scheint mir aus diesen Gründen physiologisch nicht normal zu sein. Der Organismus befand sich entschieden in einem pathologischen Zustande. Das Resultat ist deshalb, obschon eigentlich kein besseres zu erwarten war, nur mit Vorbehalt zu benützen.

Den wesentlichen Inhalt dieser Arbeit, deren Ergebnisse ich auch zu besserer Übersicht der Einzelheiten in Kurvenform illustriert habe, fasse ich in folgende Sätze zusammen:

1. Es konnte durch eine Reihe von Erwägungen gezeigt werden, daß die Frage, ob die Synthese der aus dem Nahrungseiweiß stammenden Verdauungsprodukte ausschließlich in der Darmschleimhaut oder auch anderwärts stattfinde, dadurch ge-

prüft werden könne, ob Eiweißkörper verschiedener Zersetzlichkeit in gleicher oder verschiedener Weise geeignet seien, Körpereiweiß zu ersetzen. Solche Versuche müssen, da es sich um quantitative Bestimmungen handelt, mit dem bei vollständiger Deckung des dynamischen Bedarfes erreichbaren geringsten Eiweißminimum angestellt werden, so daß der ausgeschiedene N der Abnutzungsquote von Rubner entspricht.

2. Es zeigte sich, daß Rindfleisch, Ovalbumin und Casein, in solchen Mengen am 4. Tage einer 5 tägigen Versuchsperiode gereicht, daß ihr N-Gehalt der N-Menge der Abnutzungsquote entsprach, minimales N-Gleichgewicht herzustellen vermochten. Auch am Nachtage fand keine Steigerung der N-Ausscheidung statt.

3. Da diese Eiweißkörper eine verschiedene Zersetzlichkeit haben, die verhindert, daß bei den geringen gereichten Mengen gleichzeitig die zur Synthese erforderlichen Mengen in der Darmschleimhaut vorhanden sind, folgt aus der Herstellung des N-Gleichgewichtes, daß die Synthese nicht ausschließlich in der Darmschleimhaut stattgefunden haben kann.

4. Das insbesondere beim Caseinversuch und zum Teil auch bei den Fleischversuchen beobachtete fortgesetzte Fallen des Minimal-N ist wohl auf eine Synthese von Aminosäuren aus dem in Abfuhr begriffenen N und den bei reichlicher Kohlenhydratnahrung massenhaft anwesenden Oxysäuren zurückzuführen. Der N kann aus dem vollständig abgebauten Körpereiweiß stammen.

5. Hämoglobin ist in geringen Mengen nicht imstande, N-Gleichgewicht herzustellen, weder bei eintägiger noch bei mehrtägiger Zulage. Zum Teil mag dies an seiner schlechten Resorptionsfähigkeit, zum Teil auch an seiner histonähnlichen Konstitution liegen.

6. Die von Falta konstatierte langsame Ausscheidung des Ovalbumin-N scheint auf einer starken Resistenz gegenüber den Darmsekreten zu beruhen. Dies verursacht bei mehrtägiger Superponierung eine starke Vermehrung des Kot-N und macht dadurch ein N-Gleichgewicht unmöglich.

Über die Coffeinhyperglykämie.

Von

Thor Stenström.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 30. Januar 1913.)

Mit 3 Figuren im Text.

Jabobj[1]) wies zuerst nach, daß nach Zufuhr verschiedener Coffeinpräparate Glucosurie eintrat, wenn dem Versuchstier eine hinreichende Menge Flüssigkeit und kohlenhydratreiche Nahrung zugeführt wurde.

Jacobj hielt die Glucosurie für einen wirklichen Nierendiabetes und führt als Stütze seiner Auffassung an, daß diese auch nach dem Aufhören der hervorgebrachten Diurese, die nach seiner Ansicht in erster Linie die Glucosurie erweckt, dennoch andauert. Da Jacobj keine Blutzuckerbestimmungen ausgeführt hatte, meinte Richter[2]), daß die Gründe, die er anführt, keine größere Beweiskraft hätten. Richter selbst findet und einige Jahre später auch Rose[3]) in seinen eingehenden Untersuchungen darüber die Entstehung einer erheblichen Hyperglykämie. Nachdem Rose bewiesen hatte, daß die Glucosurie später als die Hyperglykämie auftrat, und außerdem nachgewiesen hatte, daß die Hyperglykämie trotz Unterbindung der Nierenarterien und trotz Hemmung des Sekretionsstromes durch Unterbindung der Ureteren entstand, folgert er, daß das Entstehen der Glucosurie durch renale Einwirkung ausgeschlossen sei. Pollak[4]), der nach beiderseitiger Splanchnicotomie das Ausbleiben der Glucosurie feststellen konnte, nahm wie die vorigen Verfasser an, daß die Glucosurie durch die Hyperglykämie bedingt wurde, die durch eine zentrale Sympathicusreizung der Leber hervorgerufen wurde. Indessen hat Nishi[5]) später gefunden, daß die Hyperglykämie, die nach seinen Untersuchungen bei beider-

[1]) Jacobj, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **35**, 213, 1893.

[2]) Richter, Zeitschr. f. klin. Med. **35**, 463, 1898.

[3]) Rose, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **50**, 15, 1903.

[4]) Pollak, ebenda **61**, 376, 1909.

[5]) Nishi, ebenda **61**, 401, 1909.

seitiger Splanchnicotomie, bei beiderseitiger Nebennierenexstirpation und bei nervöser Isolierung der Nebennieren ausblieb, ebenfalls nicht bei linksseitiger, aber wohl bei rechtsseitiger Splanchnicotomie entsteht. Auf seine Untersuchungen gestützt, glaubte er vollgültige Gründe zu haben, um anzunehmen, daß die zentrale Reizung nach Zufuhr von Coffein nicht, wie man erst meinte, die Leber direkt trifft, sondern über die Nebennieren geht.

Nach diesen Untersuchungen könnte es ja unnötig erscheinen, auf die Bedeutung des Coffeins näher einzugehen, aber dennoch bleiben einige Fragen zu beantworten übrig. So ist es, hauptsächlich infolge von methodologischen Schwierigkeiten, unmöglich gewesen, durch Serienuntersuchungen an demselben Tiere den Zeitpunkt für das Eintreten der Hyperglykämie und ihre Zeitdauer festzustellen, ebensowenig ist es möglich gewesen, infolge der durch den Aderlaß hervorgerufenen Hyperglykämie gleich vor dem Beginn der Versuche Aufklärung über den Blutzuckergehalt zu bekommen. Dieser kann durch verschiedene Ursachen, z. B. Nahrung, Temperatureinflüsse, von Tag zu Tag variieren, und man wird dann verstehen, daß die durch das Coffein hervorgerufene Steigerung des Blutzuckergehaltes nicht exakt angegeben werden konnte. Da jedoch diese Schwierigkeiten durch Bangs[1]) neue Mikromethode weggefallen sind, die in kurzer Zeit die genaueste quantitative Bestimmung des Blutzuckers erlaubt, bin ich gern der Aufforderung des Herrn Prof. Bang gefolgt, durch erneuerte Untersuchungen für noch unaufgeklärte Fragen eine Lösung zu finden. Vorher habe ich jedoch durch Bestimmungen von reinen Traubenzuckerlösungen mich davon überzeugt, daß die von mir erhaltenen Werte mit denen von Bang angegebenen vollständig übereinstimmten.

Die Versuche sind ausschließlich an Kaninchen ausgeführt worden, die mit Kohl und Rüben gefüttert wurden. Während der Zeit, wo die Versuche stattfanden, ist dem Versuchstier keine Nahrung zugeführt worden, sondern die Fütterung ist am vorhergehenden Abend besorgt worden. Die Coffeinpräparate wurden in 4,5 ccm Ringer-Lösung aufgelöst, subcutan injiziert in Form der leichtlöslichen Salze Theobromino-salicyl. natr. (Diuretin) und Coffeino-salicyl. natr., mit einer Ausnahme jedoch, wo die Injektion intravenös in die Ohrvene ausgeführt

---

[1]) Bang, Der Blutzucker, S. 20. Wiesbaden 1913.

wurde. Der Harnzucker ist nur qualitativ nach Almén untersucht, da das Hauptgewicht auf die quantitative Bestimmung des Blutzuckers gelegt wurde.

A. Theobromin (Diuretin-) versuche.

Die Resultate sind in folgender Übersichtstabelle zusammengestellt.

Nr. 1 intravenöse Diuretininjektion.
Nr. 2 bis 4 subcutane Diuretininjektion.

Zeit nach der Injektion	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5
	0,5 g	0,5 g	1,0 g	1,0 g	2,0 g
	Blutzuckergehalt in %				
Präformiert. Zucker	0,10	0,16	0,13	0,19	0,13
5 Minuten	0,14	—	—	—	—
10 „	0,17	—	—	—	—
15 „	0,25	0,16	0,14	0,20	0,14
20 „	0,24	—	—	—	—
25 „	0,25	—	—	—	—
30 „	0,26	0,16	0,15	0,19	0,13
45 „	0,26	0,17	—	0,20	—
1 Stunde	0,23	0,21	0,20	0,22	0,16
1½ Std.	0,25	0,25	0,25	0,31	0,25
2 „	0,24	0,25	0,23	0,31	0,23
3 „	0,15	0,16	0,25	0,30	0,23
4 „	0,13	0,15	0,24	0,30	0,21
4½ „	—	—	—	—	0,25
5 „	0,12	0,15	0,20	0,31	0,20
6 „	—	0,13	0,17	0,23	0,18
7 „	—	0,14	0,13	0,20	0,15

Aus den Versuchen 2 bis 5 geht hervor, daß eine sichtbare Vermehrung des Blutzuckers erst 1 Stunde nach der Injektion eintritt. Bald darauf tritt jedoch eine schnelle Steigerung ein, und schon ½ Stunde später hat die Hyperglykämie ihr Maximum erreicht (s. nebenstehende Kurve, Fig. 1). Daß die Einwirkung des Diuretins sich nicht früher geltend macht, beruht wahrscheinlich darauf,

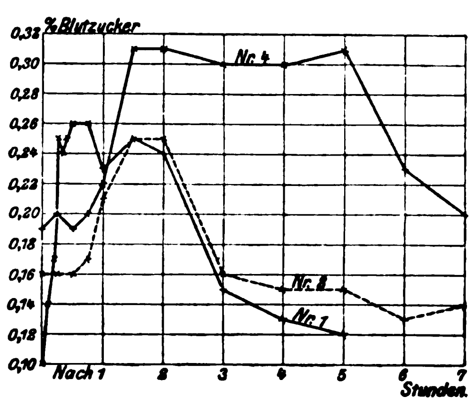


Fig. 1.

daß die Resorption eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt. Dies wird durch meinen ersten Versuch bestärkt. In diesem Falle wurde eine intravenöse Injektion vorgenommen, wobei die Hyperglykämie beinahe momentan eintrat und schon nach $^1/_2$ Stunde ihren Höhepunkt erreichte. Das Maximum des Blutzuckers dauert verschieden lange, je nach der Menge des zugeführten Diuretins von $^1/_2$ bis zu $3^1/_2$ Stunden, um später allmählich zu seinem normalen Gehalt herabzusinken.

Die Ähnlichkeit der Blutzuckerkurve (Fig. 2) mit derjenigen, die durch Adrenalininjektion erzielt wird, ist ziemlich ins Auge

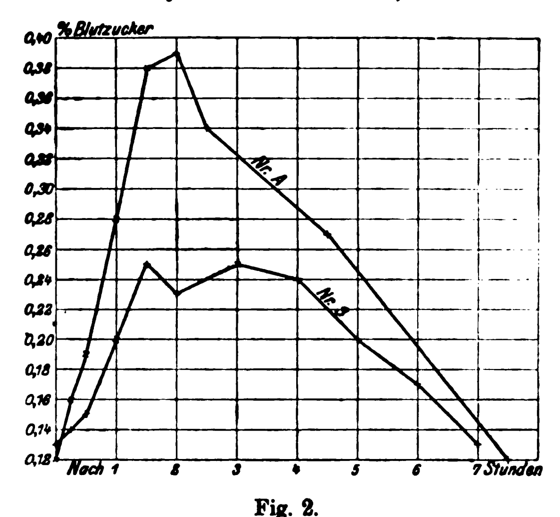


Fig. 2.
Nr. 3. Nach Diuretininjektion.
Nr. A. Nach 1 mg subcutaner Adrenalininjektion (Bang).

fallend. Dieses geht am besten aus der beigefügten graphischen Darstellung hervor, bei der die Adrenalinkurve von Bang (l. c. S. 90) entlehnt ist. In beiden Kurven kommt eine schnelle Steigerung bis zum Maximum vor, wo der Blutzuckergehalt eine Zeitlang stehen bleibt, um nachher langsam zu fallen. Der hohe Wert des Blutzuckers, den Bang erhielt, ist natürlich durch die große Adrenalinmenge (1,0 mg) bedingt.

In meinem vierten Versuche zeigt der Blutzucker schon vor der Injektion einen hohen Wert. Das Kaninchen, das direkt vom Lande herbeigeschafft und noch nie als Versuchstier benutzt worden war, zeigte sich beim Entnehmen der Blutprobe sehr unruhig, und es ist möglich, daß die Hyperglykämie eine

Folge psychischer Erregung war. Es ist aber auch denkbar, daß der hohe Blutzuckergehalt darauf beruhte, daß das Kaninchen bis jetzt im Freien bei niedriger Temperatur gelebt hatte. Als dasselbe Kaninchen nach einiger Zeit bei meinen Untersuchungen angewandt wurde, hatte es nur 0,14 % präformierten Blutzucker.

Versuch 5 zeigt ein von der typischen Kurve abweichendes Verhalten. Wenn der Blutzucker nach erreichtem Maximum sich wieder im Sinken befindet, tritt eine plötzliche Steigerung ein, aber schon nach einer halben Stunde nimmt die Kurve wieder ihr gewöhnliches Aussehen an. (Vgl. Fig. 3 Nr. 5.) Eine kurze Zeit vor dem Eintreten dieser schnellen Steigerung fing das Kaninchen an, laut zu schreien, wurde gleichzeitig von einem starken klonischen Krampf getroffen und kollabierte darauf; während einer Viertelstunde war es schlaff und bewußtlos mit tiefen Respirationen, unterbrochen von langen Atmungspausen. Allmählich jedoch erholte es sich und gewann bald seinen normalen Zustand wieder. Ich komme hierauf bei meinen Coffeinversuchen wieder zurück.

B. Coffeinversuche.

Übersichtstabelle.

Zeit nach der Injektiom	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8	Nr. 9	Anmerkungen
	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g	
	Blutzuckergehalt in %				
Präformierter Zucker	0,10	0,12	0,15	0,13	Nr. 8. Krampf
15 Minuten	—	0,14	—	—	20 Min. nach der
30 „	0,13	0,14	0,22	0,13	Injektion. † 25 Min.
45 „	—	0,17	0,28	—	später.
60 „	0,15	0,17	—	0,21	
80 „	—	—	—	0,30	Nr. 9. Krampf
$1^1/_2$ Stunden	0,20	0,20	—	0,19	78 Min. nach der
2 „	0,15	0,25	—	—	Injektion. † 12 Min.
3 „	0,13	0,25	—	—	später.
4 „	0,13	0,26	—	—	
5 „	0,11	0,24	—	—	Nr. 7. Krampf
5 Stunden 45 Minuten	—	0,50	—	—	5 Std. 40 Min. nach
6 „ 5 „	—	0,36	—	—	der Injektion.
$6^1/_2$ Stunden	0,13	—	—	—	† 25 Min. später.
7 „	0,11	—	—	—	

Mit einer Ausnahme (Nr. 6) wurden die Versuchstiere, die Coffeino-salicyl. natric. erhielten, von ähnlichen Symptomen betroffen, die ich oben in Versuch 5 beschrieben habe. Alle

diese starben bald nachher ohne ihr Bewußtsein wieder erlangt zu haben. In diesen Fällen wurde ebenfalls eine plötzliche Steigerung des Blutzuckers wahrgenommen, gefolgt von einer ebenso schnellen Senkung, die ja eine Abweichung von der für die Coffeinhyperglykämie typischen Kurve ausmacht (Fig. 3). Versuchsfehler sind ausgeschlossen, da die Differenz allzu hoch ist. Die Ursache dieser merkwürdig schnellen Steigerung sind wahrscheinlich die plötzlich eintretenden Konvulsionen. Inwiefern diese selbst oder die gleichzeitig entstandene Asphyxie die Ursache ist, läßt sich nicht sicher bestimmen.

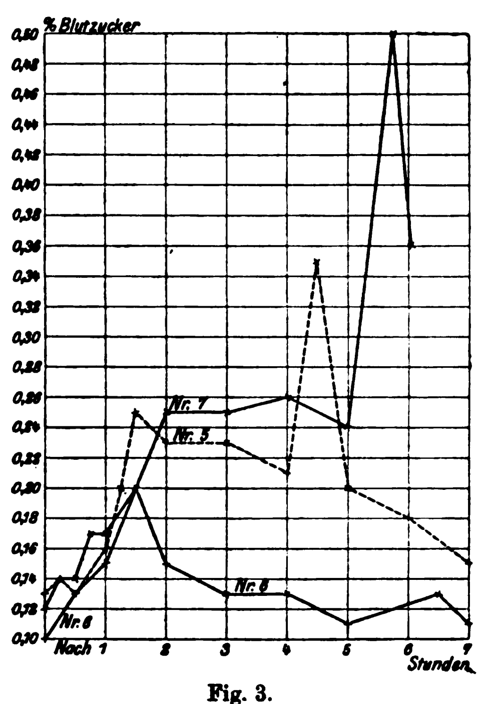


Fig. 3.

Aber weit merkwürdiger als diese schnelle Steigerung ist das ebenso plötzlich eintretende Sinken des Blutzuckers, eine Tatsache, die nie vorher beobachtet worden ist. Man kann sich vorstellen, daß der Organismus imstande ist, diese intensive, aber kurze Extraproduktion in Analogie zu dem Verhältnis bei intravenöser Zuckerinjektion zu absorbieren (vgl. Bang, Der Blutzucker S. 73). Es ist ja auch möglich, daß man die Erklärung in einer schnellen Ausscheidung durch die Nieren finden kann. Was nun in Wirklichkeit die richtige Erklärung ist, müssen zukünftige, speziell darauf gerichtete Versuche entscheiden.

Aus Versuch 7, wo der Krampf erst beinahe 6 Stunden nach der Injektion eintrat, und noch besser aus Versuch 6 geht hervor, daß die Blutzuckerkurve sonst dasselbe Bild zeigt wie bei den Diuretinversuchen.

Meine Untersuchungen zeigen also, daß nach Injektion von Coffeinpräparaten eine schnelle Steigerung von Blutzucker eintritt, und daß dieser nach der Erreichung seines Maximalwertes, je nach der Menge des zugeführten Präparates, sich längere oder kürzere Zeit in der Höhe hält, um später allmählich zu sinken.

Der höchste Wert der Hyperglykämie, den ich erhalten habe, ist 0,31 %, aber in diesem Falle (Nr. 4) betrug der Blutzucker schon vor der Injektion 0,19 %. Im allgemeinen hat der Maximalwert des Blutzuckers nach Coffein bei meinen Kaninchen, die vor den Versuchen einen ziemlich hohen Blutzuckergehalt zeigten, sich auf ungefähr 0,25 % gehalten, und das Resultat stimmt gut mit den Angaben der früheren Verfasser überein. So hat z. B. Rose Werte erhalten, die zwischen 0,17 bis 0,33 % variieren. Dennoch hat Nishi in einem seiner Versuche einen so hohen Wert wie 0,47 % bekommen. Leider fehlen nähere Angaben betreffs des Versuchstieres. Für die Beurteilung des Falles wäre es von Wichtigkeit zu wissen: erstens den ursprünglichen Blutzuckergehalt, zweitens auch, wie das Tier sich während der Zeit zwischen der Injektion und der Entnahme der Blutprobe verhalten hat. Es ist ja möglich, daß ein ähnlicher Krampfanfall, wie ich ihn oben beschrieben habe, der Blutprobe vorangegangen ist, wonach das Tier sich wieder erholt hat.

Zum Schluß noch einige Worte über den Harnzucker. Mit Ausnahme von Versuch 4 fiel Alméns Probe vor der Injektion negativ aus. Eine Untersuchung nach der Injektion fehlt bei Nr. 7 und 8, wo die Versuchstiere schon früh starben, negativ war die Alménsche Probe bei Versuch 3 und 6, aber positiv in den übrigen Fällen. Die Reduktion wurde an dem gesammelten Harn während der Zeit, da die Versuche stattfanden, ausgeführt.

Die Dissoziationskonstanten einiger sehr schwacher Säuren, insbesondere der Kohlenhydrate, gemessen auf elektrometrischem Wege.

Von

Leonor Michaelis und Peter Rona.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 30. Januar 1913.)

1. Prinzip und Anwendungsbereich der Methode.

Zwischen Elektrolyten und Nichtelektrolyten besteht ein ganz allmählicher Übergang, insbesondere besteht auch ein ganz allmählicher Übergang zwischen Säuren, d. h. wasserstoffhaltigen Verbindungen, deren H-Atom als H-Ion abgespalten werden kann, und den wasserstoffhaltigen Verbindungen, deren H-Atom nicht abgespalten werden kann. Will man die Anschauungen der physikalischen Chemie konsequent durchführen, so wird man prinzipiell jedem H-Atom die Fähigkeit der Ionisierung zuschreiben und den Unterschied nur in der Größe dieser Ionisierungstendenz suchen. So kommt man zu einer fortlaufenden Reihe von Säuren mit immer schwächer werdender Dissoziationstendenz etwa folgendermaßen:

Salzsäure — Essigsäure — Kohlensäure — Phenol — Zucker — Alkohol — Benzol — Hexan.

Bei den letzten Gliedern dieser Reihe, von Alkohol bis Hexan, ist die Tendenz zur Ionenbildung so ungeheuer klein, daß sie auf keine Weise direkt meßbar war und nur durch immerhin vorhandene, äußerst geringfügige Leitfähigkeit für den elektrischen Strom vermutungsweise erschlossen werden konnte. Aber auch bei den Zuckern ist diese Tendenz noch so außerordentlich gering, daß man Bedenken tragen kann, diese Körper überhaupt als „Säuren" zu bezeichnen. Das Maß

für die Ionisierungstendenz ist die Dissoziationskonstante. Die zahlenmäßige Bestimmung derselben seit den grundlegenden Arbeiten von Arrhenius und Wilh. Ostwald gehört zu den größten Errungenschaften der physikalischen Chemie, von denen auch die Physiologie noch andauernd und unübersehbar weiterhin Nutzen zieht. Und gerade die Bestimmung der Dissoziationskonstante der schwachen Säuren (und Basen) hat sich als so überaus lichtbringend für die Physiologie erwiesen.

Die hauptsächlichste bisher angewandte Methode zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten sehr schwacher Säuren beruht auf der Bestimmung der hydrolytischen Dissoziation ihrer Salze. Man bestimmte in der Regel die Hydrolyse des Na-Salzes. Der einfachste Weg, diese Hydrolyse zu bestimmen, wäre nun, die Wasserstoffionenkonzentration der wässerigen Lösung solcher Salze zu messen. Die Gaskettenmethode, die diese Aufgabe mit größter Exaktheit erfüllt, war aber bis vor kurzem noch nicht so weit ausgebildet, daß man sie praktisch für diesen Zweck anwenden konnte. Und so sind denn alle diese Bestimmungen mit Methoden ausgeführt worden, die man eigentlich als indirekte Methoden bezeichnen könnte, nämlich durch Messung der Leitfähigkeit, sodann durch Messung der Verseifungs- oder Inversionsgeschwindigkeit.

Die elektrometrische Messung der Wasserstoffionenkonzentrationen zur Bestimmung von Dissoziationskonstanten ist bisher nur vereinzelt angewendet worden. In der vorzüglichen Zusammenfassung von Lundén[1]) ist darüber zu lesen: „Dies beruht auf Schwierigkeiten erstens in der Beschaffung von reproduzierbaren Elektroden und zweitens in der Berechnung von den zwischen Flüssigkeiten auftretenden Diffusionspotentialen.“ Es wird daselbst berichtet, daß nur H. G. Denham[2]) die Hydrolyse von Anilinhydrochlorid, Ammoniumchlorid und einiger Metallsalze mit der Gaskette untersucht habe.

Wir werden nun in dieser Arbeit zeigen, daß wir in der heute aufs Vollkommenste ausgearbeiteten Methode der Gasketten eine für den Zweck sehr geeignete Methode besitzen,

---

[1]) Harald Lundén, Affinitätsmessungen an schwachen Säuren und Basen. Samml. chem. u. chem.-techn. Vorträge, Stuttgart 1908, 30.

[2]) H. G. Denham, Hydrolysemessungen an anorganischen Salzen mittels Konzentrationsketten. Journ. Chem. Soc. 93, 41, 424, 833, 1908.

die noch dazu imstande ist, die Konstanten viel schwächerer Säuren ziemlich exakt zu messen. Die Methode besteht in folgendem:

Eine Lösung von reinster, CO_2-freier Natronlauge[1]) mit bekanntem Titer, der sowohl titrimetrisch wie elektrometrisch mit der Gaskette genau festgestellt wird, wird mit irgendeiner bekannten Menge der zu messenden Säure versetzt und in dieser Lösung die Wasserstoffionenkonzentration, $[H^{\cdot}]$, elektrometrisch bestimmt. Daraus wird die OH'-Konzentration berechnet. Man findet nun, daß die mit der Säure versetzte Lauge eine geringere OH'-Konzentration hat als in reinem Zustande bei gleicher Verdünnung, und zwar möge die Differenz der OH'-Konzentration $\Delta_{OH'}$ betragen. Diese muß notwendigerweise gleich der Menge der in der Lösung vorhandenen Säureionen sein, denn aus dem Gesetz der Elektroneutralität folgt, daß, da ja positive Ionen (mit Ausnahme einer verschwindend kleinen Menge von hinzukommenden Wasserstoffionen) durch das Hinzufügen der schwachen Säure weder fortgenommen noch hinzugetragen sind, die fehlenden negativen OH-Ionen durch ebenso viele negative Säureionen ersetzt worden sind. Es ist also $\Delta_{OH'}$ gleich der Konzentration der Säureanionen $[S']$. Nun ist nach dem Massenwirkungsgesetz, wenn $[S]$ die Gesamtmenge der zugefügten Säure sein soll, und k die Dissoziationskonstante der Säure

$$\frac{[S'] \cdot [H^{\cdot}]}{[S] - [S']} = k \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (1)$$

Alle Ausdrücke der linken Seite sind nun meßbar: $[S']$ ist $= \Delta_{OH'}$; $[H^{\cdot}]$ wird direkt elektrometrisch bestimmt, $[S]$ ist die Gesamtkonzentration der zugefügten Säure, und wir finden so die Dissoziationskonstante der Säure auf die einfachste Weise. Vorbedingung ist nur eine wirklich genaue elektrometrische $H^{\cdot}$-Konzentrationsbestimmung und die völlige CO_2-Freiheit der Lauge.

Die elektrometrische Methode wurde genau in der früher von uns[2]) beschriebenen Weise ausgeführt. Die Anwendung der

---

[1]) Hergestellt nach der von Sörensen (diese Zeitschr. **21**, 168 [Fußnote], 1909) beschriebenen, sehr einfachen und vollkommen verläßlichen Methode.

[2]) L. Michaelis, in Abderhaldens Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden, V.

Schüttelmethode[1])[2]) ist bei Abwesenheit von CO_2 völlig überflüssig. Wenn man nur immer den beschriebenen Kunstgriff anwendet, die Platinelektrode nur ganz knapp eben eintauchen zu lassen[3]), so stellt sich in 1 bis 2 Stunden ausnahmslos ein konstantes Potential ein, dessen Richtigkeit z. B. auch dadurch verbürgt wird, daß wir die H'-Konzentration reiner NaOH-Lösungen (und somit auch die Dissoziationskonstante des Wassers) durchaus übereinstimmend mit den Werten von Sörensen fanden, die wegen ihrer besonderen Genauigkeit als die Standardzahlen angesehen werden dürfen. Um den Schwierigkeiten zu entgehen, die ein etwaiges Diffusionspotential hervorbringt, verwendeten wir die NaOH höchstens bis zu einer Konzentration von 0,03 n und fügten der Lösung stets noch KCl bis zu einem Gehalt von 0,1 n hinzu und benutzten als Zwischenflüssigkeit stets die gesättigte KCl-Lösung. Als Ableitungselektrode benutzten wir stets die von uns beschriebene „gesättigte Kalomelelektrode"[2]), die sich uns stets als zuverlässig und dauernd unveränderlich bewährt hat. Bei dieser Anordnung entstehen Diffusionspotentiale im ungünstigsten Falle von höchstens 0,3 Millivolt; bei Anwendung noch schwächerer Lauge (0,015 n), wie es zumeist geschah, noch viel weniger, so daß wir das Diffusionspotential ganz vernachlässigen können.

Die oben benutzte Formel (1) bedarf häufig noch einer Korrektur. Es ist nämlich in der Lösung auch noch eine gewisse Menge des undissoziierten Na-Salzes der betreffenden Säure vorhanden, deren Menge man, nach Analogie mit bekannten anderen Fällen, bei einem Gesamt-Na-Gehalt der Lösung von etwa 0,1 normal zu etwa $^1/_4$ von der der elektrolytisch dissoziierten Menge dieses Na-Salzes schätzen kann (d. h. daß der Dissoziationsgrad des Na-Salzes $\gamma = 0{,}8$ ist). Diese Menge muß man unter dem Bruchstrich auch noch von [S] abziehen, so daß die Gleichung lauten würde:

$$\frac{[S'] . [H^{\cdot}]}{[S] - \frac{5}{4} \cdot [S']} = k \quad \text{oder allgemein} \quad \frac{[S'] . [H^{\cdot}]}{[S] - \frac{1}{\gamma} [S']} = k \; . \qquad (2)$$

---

1) Hasselbalch, diese Zeitschr. 30, 317, 1911.

2) L. Michaelis u. W. Davidoff, diese Zeitschr. 40, 131, 1912.

3) L. Michaelis u. P. Rona, diese Zeitschr. 18, 320, 1909.

Da nun der Versuch auch aus anderen Zweckmäßigkeitsgründen bei sehr schwachen Säuren vorteilhaft so gestaltet werden muß, daß [S'] klein gegenüber [S] ist, so macht diese Korrektur oft äußerst wenig aus und kann in diesen Fällen ganz vernachlässigt werden.

Die gleiche Methode kann natürlich mutatis mutandis auch für die Bestimmung der Dissoziationskonstante schwacher Basen angewendet werden, wenn man HCl statt NaOH verwendet, und bei amphoteren Elektrolyten kann man nacheinander die beiden Dissoziationskonstanten bestimmen. Das letztere versuchten wir der Übung halber mit dem Glykokoll.

Die Körperklasse, bei der wir diese Methode hauptsächlich anwendeten, sind die Kohlenhydrate und die mehrwertigen Alkohole. Das Interesse an der Kenntnis der Säurekonstanten dieser Körper wird durch unsere frühere Mitteilung[1]) gerechtfertigt, und wir hoffen, die Kenntnis dieser Konstanten noch weiterhin gerade für biologische Zwecke ausnutzen zu können.

Bei der Ansetzung der Versuche sind noch folgende Punkte zu berücksichtigen. Für eine genaue Bestimmung der Dissoziationskonstanten ist es vorteilhaft, den Versuch so anzusetzen, daß $\Delta_{OH'}$ nicht zu klein wird. Dabei kommt es nicht auf die absolute Kleinheit, sondern auf die relative Kleinheit von $\Delta_{OH'}$ im Vergleich zur [OH'] der beiden zu vergleichenden Lösungen an. Beträgt der Potentialunterschied beider Lösungen etwa 20 bis 200 Millivolt, so wird die Bestimmung sehr gut. Aber auch kleinere Potentialunterschiede von 10 bis 20 Millivolt sind noch gut verwertbar, und zur Bestimmung der Größenordnung der Dissoziationskonstanten genügen selbst Potentialunterschiede bis herunter zu 4 Millivolt und weniger.

Bei den allerschwächsten Säuren, wie Glycerin, muß man sich mit so kleinen Unterschieden begnügen. Man könnte zwar diesen Potentialunterschied bedeutend erhöhen, wenn man mit stärkeren Glycerinlösungen arbeitete. Aber man schaltet damit eine Fehlerquelle ein, indem man die Natur des Lösungsmittels wesentlich verändert. Schon in einer 10%igen Lösung von Äthylalkohol hat man nicht mehr eine eigentlich rein wässerige Lösung vor sich, der Alkohol bestimmt dann schon die Eigenschaften des Lösungsmittels mit, die Dissoziationskonstante des

[1]) L. Michaelis u. P. Rona, diese Zeitschr. 47, 447, 1912.

Wassers ändert sich, so daß man aus der gemessenen H˙-Konzentration nicht ohne weiteres die OH′-Konzentration berechnen kann, u. a.

Wenn wir z. B. beim Glycerin bis zu einer Konzentration von $^1/_1$ normal gingen, um die $\Delta_{OH'}$ zu vergrößern, so sind wir uns bewußt, damit vielleicht einen kleinen Fehler zu machen, der aber wenigstens die Größenordnung der gefundenen Zahlen nicht beeinträchtigen wird. Interessant sind die Messungen mit Äthylalkohol. $\Delta_{OH'}$ ist bei 0,2 n-Äthylalkohol = 0, bei 2 n-Äthylalkohol aber scheinbar negativ, wenn auch nur sehr wenig. Das heißt, das Basenbindungsvermögen des Äthylalkohols ist so außerordentlich klein, daß es keine meßbare $\Delta_{OH'}$ erzeugt, daß im Gegenteil die im entgegengesetzten Sinne wirkende „Veränderung des Lösungsmittels“ durch den Äthylalkohol zutage tritt, die den Untersuchungen von Löwenherz[1]) entspricht, der eine Änderung der Dissoziationskonstante des Wassers mit steigendem Äthylalkoholgehalt fand, sobald dieser 7 $^0/_0$ überstieg.

Wenn wir berechnen wollen, welches die kleinste, auf diesem Wege noch annähernd meßbare Dissoziationskonstante einer Säure ist, so können wir das auf folgende Weise tun. Nehmen wir an, daß wir mit 0,1 n-KCl und 0,005 n-NaOH arbeiten (darunter möchten wir vorläufig wegen der dann eintretenden Unsicherheit infolge auch der allerkleinsten Verunreinigung mit CO_2 nicht gern gehen) und die Säure in der höchsten erlaubten Konzentration von 0,4 n[2]) hinzugefügt hätten, und dann einen Potentialunterschied der reinen Lauge gegen die säurehaltige Lauge von 1 Millivolt erhielten[3]), so würde daraus folgen (für $k_w = 10^{-14,14}$):

	in der reinen Lauge	in der säurehaltigen Lauge
[OH′] =	$4{,}20 \cdot 10^{-3}$	$4{,}04 \cdot 10^{-3}$
[H˙] =	$1{,}71 \cdot 10^{-12}$	$1{,}78 \cdot 10^{-12}$

[1]) Löwenherz, Über den Einfluß des Zusatzes von Äthylalkohol auf die Dissoziationskonstante des Wassers. Zeitschr. f. physikal. Chem. **20**, 283, 1896.

[2]) In einem solchen Falle muß man eine Veränderung der Natur des Lösungsmittels ganz besonders vermeiden und darf die angegebene Konzentration nicht gut überschreiten.

[3]) Die [H˙] zweier Lösungen, deren Potentialunterschied bei 18° 1 Millivolt beträgt, verhalten sich wie 1,04 : 1.

und daher $\Delta_{OH'} = 0{,}16 \cdot 10^{-8}$

und $k = \frac{0{,}16 \cdot 10^{-8} \cdot 1{,}78 \cdot 10^{-12}}{0{,}4 - 0{,}00016}$

$k = 7{,}1 \cdot 10^{-16}$

oder rund $k = 10^{-15}$.

Eine Dissoziationskonstante $< 10^{-15}$ ist also heutzutage auf keine Weise mehr meßbar. Das ist aber nur die Schuld einer noch ungenügenden Methodik, und es folgt keineswegs daraus, daß es für den chemischen Charakter eines Stoffes ohne Belang ist, ob er z. B. eine Säure mit der Dissoziationskonstante 10^{-16} ist. Wir könnten heutzutage auf keine Weise nachweisen, daß ein solcher Stoff eine Säure ist, und doch wäre ein solcher Stoff, in normal NaOH gelöst, zu etwa 1% in Ionen gespalten. Haben nun diese Ionen irgendwelche besondere Eigenschaften, wie z. B. Labilität, so würde ein solcher Stoff allein infolge seiner Säurenatur in einer normalen NaOH rapide zerstört werden, obwohl wir sonst kein Mittel hätten, seine Säurenatur zu erkennen!

Solche Betrachtungen werfen ein Schlaglicht auf die Wirkung der Alkalien und Säuren auf Stoffe, die wir gewohnt sind als vollkommene Nichtelektrolyte zu betrachten, und wir können diese Untersuchungen daher als eine Fortsetzung der Arbeiten zur Aufklärung der Säure- und Alkalikatalyse ansehen[1]).

2. Die Dissoziationskonstante des Wassers.

Für die Anwendung der Methode muß zunächst die Dissoziationskonstante des Wassers, k_w, bekannt sein. Die zuverlässigste Messung derselben dürfte die von Sörensen sein, die k_w für $18^0 = 10^{-14,14}$ ergab. In einzelnen Versuchsserien schwankte der Mittelwert um einige Einheiten der zweiten Dezimale des Exponenten. Wir wiederholten zunächst diese Bestimmungen einerseits zur Kontrolle, andererseits um zu demonstrieren, daß unsere Methode der stehenden Wasserstoffatmosphäre und ohne Schütteln Resultate ergibt, die sich mit dem von Sörensen als Standardmethode bezeichneten Verfahren decken.

---

[1]) L. Michaelis u. P. Rona, diese Zeitschr. 47, 448, 1912.

Eine Lösung von völlig CO_2-freier NaOH von bekannter Konzentration, die gleichzeitig stets noch dazu 0,1 n-KCl enthielt[1]), ergab gegen eine „gesättigte Kalomelelektrode“ (mit einem Standardwert von 617,5 Millivolt gegen das „Standardacetatgemisch“), wenn als Zwischenflüssigkeit gesättigte KCl-Lösung benutzt wurde, die EMK:

Nr.	Konzentration der NaOH	[2]) p_{OH}	Temp. der Flüssigkeit °C	EMK Millivolt	p_H	Daraus berechneter Wert für $-\lg k_w$
1	0,030		18,0	970,0		
2	0,030		17,0	971,5		
3	0,030		18,5	969,0		
4	0,030		17,5	970,0		
Mittel	aus Nr. 1—4	1,60	17,75	970,1	12,48	14,08
5	0,0375		18,0	976,0		
6	0,0375		17,0	974,5		
Mittel	aus Nr. 5 u. 6	1,50	17,5	975,2	12,57	14,07
7	0,015		18,5	954,5		
8	0,015		19,5	955,5		
9	0,015		19,5	954,5		
10	0,015		19,0	956,2		
11	0,015		18,5	955,5		
12	0,015		17,5	954,7		
13	0,015		19,5	956,0		
14	0,015		19,2	956,0		
15	0,015		17,5	956,0		
16	0,015					
Mittel	aus Nr. 7—16	1,90	18,7	955,4	12,18	14,08
17	0,0075		19,0	938,0		
18	0,0075		18,5	939,5		
19	0,0075		17,5	937,3		
Mittel	aus Nr. 17—19	2,20	18,3	938,3	11,91	14,11
20	0,0153		18,5	959,0		
21	0,0153		17,5	958,0		
22	0,0153		17,5	956,0		
23	0,0153		17,5	956,0		
24	0,0153		17,5	957,0		
25	0,0153		16,5	958,2		
26	0,0153		17,5	957,8		
27	0,0153		17,0	958,5		
Mittel	aus Nr. 20—27	1,89	17,5	957,6	12,23	14,12

[1]) Alle Lösungen dieser Arbeit enthalten 0,1 n-KCl.

[2]) Zur Berechnung von p_{OH} legten wir überall den Dissoziationsgrad 0,84 zugrunde, weil der $K^{\cdot}$-Gehalt aller Lösungen 0,1 n ist und der $Na^{\cdot}$-Gehalt demgegenüber für diesen Zweck zu vernachlässigen ist.

Nimmt man aus all diesen Mittelzahlen das gemeinsame Mittel, indem man jede einzelne Mittelzahl entsprechend der Zahl der Versuche, aus der sie gewonnen wurde, berücksichtigt, so ergibt sich

$$k_w \text{ für } 17{,}9^0 = 10^{-14{,}10} = 0{,}79 \cdot 10^{-14}.$$

Hieraus kann man für die benachbarten Temperaturen folgende Werte für k_w berechnen:

k_w für	16^0	$10^{-14{,}16} = 0{,}69 \cdot 10^{-14}$
	17^0	$10^{-14{,}13} = 0{,}74 \cdot 10^{-14}$
	18^0	$10^{-14{,}10} = 0{,}79 \cdot 10^{-14}$
	19^0	$10^{-14{,}07} = 0{,}85 \cdot 10^{-14}$

Der Wert für 18^0 steht in befriedigender Übereinstimmung mit dem Sörensenschen Mittelwert ($10^{-14{,}14}$), noch besser mit dem Mittelwert aus seiner ersten Versuchsserie ($10^{-14{,}10}$)[1].

8. Ausführlichere Erörterung der Methode an zwei Beispielen.

a) Bestimmung der Säurekonstante des Phenols.

Es wurden 7 Versuche angestellt, derart, daß stets eine endgültige Konzentration von 0,0153 n-NaOH vorhanden war und gleichzeitig 0,1 n-KCl. Die [OH'] dieser Lauge, ohne Phenol, hätte also betragen (Spalte 3) 0,0129 n. In Spalte 4 ist die Konzentration des Phenols angegeben. Sie wurde durch Zufügen einer (zunächst roh durch Wägen, sodann jodometrisch genau geeichten) Stammlösung von Phenol in CO_2-freiem Wasser erreicht. In Spalte 5 ist die Temperatur der Versuchslösung, wie sie nach eingetretener Konstanz der EMK in der Elektrode selbst gemessen wurde. Spalte 6 gibt die EMK der Lösung gegen eine „gesättigte Kalomelelektrode"[2]), die gegen das Standardacetatgemisch bei 16 bis 19^0 eine Potentialdifferenz von 517,5 Millivolt zeigte. Spalte 7 gibt den daraus berechneten Wasserstoffexponenten, Spalte 8 den hieraus und aus der Dissoziationskonstante des Wassers berechneten Hydroxylexponenten; Spalte 9 und 10 geben die zu beiden Exponenten gehörigen Numeri. Spalte 11 gibt die Differenz derjenigen [OH'], die in der phenolfreien Lauge vorhanden wäre (s. Spalte 3),

[1]) Diese Zeitschr. **21**, 162, 1909, obere Hälfte der Tabelle.

[2]) Siehe darüber L. Michaelis und W. Davidoff, diese Zeitschr. **46**, 131, 1912; daselbst Anhang S. 148.

und derjenigen [OH'], die im Versuch wirklich vorhanden war (Spalte 10). Dieser Wert ist also die gesuchte Δ_{OH}. Spalte 12 gibt die nach der einfachen Formel (1) berechnete Säurekonstante des Phenols. Wie man sieht, stimmt diese nur von Versuch 1 bis 3 einigermaßen überein und fällt mit fallender Phenolkonzentration sehr merklich. In Spalte 13 bis 16 wurde versucht, die kompliziertere Formel (2) anzuwenden, und zwar wurde probiert, wie groß man den elektrolytischen Dissoziationsgrad γ des Phenolnatriums anzunehmen habe, damit die Werte der Säurekonstante k möglichst unabhängig von der Phenolkonzentration seien. Setzt man $\gamma = 0{,}8$ (Spalte 13), wie es etwa für Natriumacetat angängig wäre, so fallen die Werte von k immer noch mit fallender Phenolkonzentration; für $\gamma = 0{,}667$ auch noch, aber für $\gamma = 0{,}556$ nicht mehr merklich, höchstens bei der niedersten Phenolkonzentration (Versuch 6 bis 8) noch ein wenig. Setzt man $\gamma = 0{,}526$, so steigen die k-Werte sogar ein wenig bei fallender Phenolkonzentration, und als wahrscheinlichster Wert von γ ergibt sich somit folgendes:

Der elektrolytische Disso-

Phenol.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH'] in derselben, wenn ohne Phenol	Konzentration des Phenols	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H']	[OH']	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-11}$ für $\gamma =$ 1,0	0,8	0,667	0,555	0,526
											oder = 1	4/5	2/3	5/9	10/19
1	0,0153	0,0129	0,2170	16,8	773,0	9,06	5,07	$8{,}70 \cdot 10^{-10}$	$8{,}5 \cdot 10^{-6}$	0,0129	5,50	5,59	5,68	5,80	5,83
2	0,0153	0,0129	0,2170	16,8	773,0	9,06	5,07	$8{,}70 \cdot 10^{-10}$	$8{,}5 \cdot 10^{-6}$	0,0129	5,50	5,59	5,68	5,80	5,83
3	0,0153	0,0129	0,1085	17,5	794,8	9,42	4,70	$3{,}80 \cdot 10^{-10}$	$3{,}8 \cdot 10^{-5}$	0,0129	5,13	5,30	5,56	5,82	5,90
4	0,0153	0,0129	0,0542	17,5	819,8	9,86	4,26	$1{,}39 \cdot 10^{-10}$	$5{,}5 \cdot 10^{-5}$	0,0128	4,30	4,66	5,08	5,82	5,96
5	0,0153	0,0129	0,0271	17,5	872,0	10,78	3,34	$1{,}66 \cdot 10^{-11}$	$4{,}6 \cdot 10^{-4}$	0,0124	1,40	1,77	2,42	4,29	5,82
6	0,0153	0,0129	0,0271	16,8	870,0	10,73	3,40	$1{,}86 \cdot 10^{-11}$	$4{,}0 \cdot 10^{-4}$	0,0125	1,59	2,02	2,77	5,06	6,84
7	0,0153	0,0129	0,0271	16,8	870,7	10,75	3,38	$1{,}78 \cdot 10^{-11}$	$4{,}2 \cdot 10^{-4}$	0,0125	1,52	1,94	2,66	4,84	6,54

ziationsgrad γ von Phenolnatrium (bzw. Phenolkalium) bei unserer Versuchsbedingung [1]) ist gleich 0,54 (also auffällig klein für ein Alkalisalz).

Die Dissoziationskonstante des Phenols wird daher mit dem geringsten Fehler aus denjenigen Zahlen berechnet, die aus einer hohen Phenolkonzentration (Versuch 1, 2, 3) gewonnen wurden, und denen möglichst der richtige Dissoziationsgrad des Phenolnatriums zugrunde gelegt ist (also Spalte 15); und diese Zahlen sind:

$$k = 5{,}80 \cdot 10^{-11}$$
$$5{,}80 \cdot 10^{-11}$$
$$5{,}82 \cdot 10^{-11}$$
$$\text{im Mittel } 5{,}81 \cdot 10^{-11} \text{ für } 17^0.$$

Die von Hantzsch und Walker (vgl. S. 248) gefundenen Werte stimmen hiermit kaum der Größenordnung nach überein; jedoch glauben wir unserer Methode den Vorzug geben zu können.

b) Bestimmung der Säure- und der Basenkonstante des Glykokolls.

Glykokoll.

a) Säurekonstante.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH'] in derselben, ohne Glykokoll	Konzentr. des Glykokolls	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH']	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-10}$ für $\gamma =$ 1	0,85	0,75	0,5
1	0,0153	0,0129	0,2	17,5	756,3	8,77	5,34	$1{,}70 \cdot 10^{-9}$	$4{,}57 \cdot 10^{-6}$	0,0129	1,17	1,19	1,20	1,26
2	0,0153	0,0129	0,1	17,5	776,0	9,10	5,01	$7{,}96 \cdot 10^{-10}$	$9{,}80 \cdot 10^{-6}$	0,0129	1,18	1,21	1,24	1,38
3	0,0153	0,0129	0,05	17,5	796,0	9,42	4,71	$3{,}80 \cdot 10^{-10}$	$1{,}95 \cdot 10^{-5}$	0,0129	1,32	1,41	1,49	2,02

Die Annahme $\gamma = 0{,}75$ führt zu steigenden Werten von k, noch mehr die Annahme $\gamma = 0{,}5$. Es ist also

$\gamma_{\text{Glykokoll—Natrium}}$ nicht wesentlich kleiner als 1; wohl 0,8 bis 0,9 [2]).

$$\text{Mittel } k_{a\,(\text{Glykokoll})} = 1{,}2 \cdot 10^{-10} \text{ für } 17{,}5^0.$$

(Nach Winkelblech $= 1{,}8 \cdot 10^{-10}$ für 25°.)

---

[1]) Das heißt in einer Lösung, die 0,1 n-K (und daneben noch ein wenig Na, nämlich 0,015 n) enthält.

[2]) Diese Zahl ließe sich durch genügende Wiederholungen und Variationen sehr scharf bestimmen; es wird hier davon Abstand genommen.

b) Basenkonstante.

Vers. Nr.	Konzentration der HCl	[H˙] in derselben, ohne Glykokoll	Konzentr. des Glykokolls	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH˙]	Δ_H	$k \cdot 10^{-11}$ für $\gamma =$ 1	0,75	0,5
1	0,0100	0,00916	0,2	17,5	465,0	3,70	10,41	$2{,}00 \cdot 10^{-4}$	$3{,}90 \cdot 10^{-11}$	0,00896	18,3	18,6	19,2
2	0,0100	0,00916	0,1	17,5	446,0	3,38	10,73	$4{,}17 \cdot 10^{-4}$	$1{,}87 \cdot 10^{-11}$	0,00874	16,9	18,5	20,4
3	0,0100	0,00916	0,05	17,5	428,0	3,07	11,06	$8{,}52 \cdot 10^{-4}$	$8{,}72 \cdot 10^{-12}$	0,00821	14,7	18,0	20,9

Die Annahme $\gamma = 1$ führt zu fallenden Werten für k; die Annahme $\gamma = 0{,}75$, ebenso $\gamma = 0{,}67$ führt zu befriedigender Konstanz von k. Es dürfte somit angenähert sein

$$\gamma_{\text{Glykokoll—Chlorhydrat}} \text{ etwa } 0{,}7 \text{ betragen.}$$

Mittel aus den beiden letzten Kolumnen:

$$k_{b\ (\text{Glykokoll})} = 1{,}93 \cdot 10^{-12} \text{ für } 17{,}5°.$$

(Nach Winkelblech $= 2{,}7 \cdot 10^{-12}$ für 25°.)

4. Die Säurekonstanten einiger extrem schwacher Säuren.

Glycerin.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Glycerin	Konzentr. des Glycerins	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH′]	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-15}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-15}$ für $\gamma = 0{,}5$
1	0,0153	0,0129	1,0	17,5	941,0	11,98	2,15	$1{,}05 \cdot 10^{-12}$	$7{,}10 \cdot 10^{-3}$	0,0058	6,1	6,1
2	0,0153	0,0129	0,5	17,5	947,5	12,08	2,05	$8{,}30 \cdot 10^{-13}$	$8{,}90 \cdot 10^{-3}$	0,0040	6,7	6,7
3	0,0153	0,0129	0,2	17,5	952,5	12,17	1,96	$6{,}80 \cdot 10^{-13}$	$1{,}05 \cdot 10^{-2}$	0,0024	8,3	8,4

Mittel: $k_{\text{Glycerin}} = 7 \cdot 10^{-15}$.

Mannit.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Mannit	Konzentr.	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH′]	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-14}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-14}$ für $\gamma = 0{,}5$
1	0,0150	0,0126	0,2	19,0	940,0	11,92	2,15	$1{,}20 \cdot 10^{-12}$	$7{,}17 \cdot 10^{-3}$	0,0055	3,39	3,5
2	0,0150	0,0126	0,1	19,0	947,0	12,04	2,03	$9{,}10 \cdot 10^{-13}$	$9{,}30 \cdot 10^{-3}$	0,0033	3,60	3,9
3	0,0150	0,0126	0,05	19,0	950,5	12,10	1,97	$8{,}00 \cdot 10^{-13}$	$1{,}07 \cdot 10^{-2}$	0,0019	3,16	3,3

Mittel: $k_{\text{Mannit}} = 3{,}4 \cdot 10^{-14}$.

Dulcit.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Dulcit	Konzentr.	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH′]	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-14}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-14}$ für $\gamma = 0{,}5$
1	0,0150	0,0126	0,1	17,5	949,0	12,07	2,06	$8{,}5 \cdot 10^{-13}$	$8{,}70 \cdot 10^{-3}$	0,0039	3,4	3,6
2	0,0150	0,0126	0,1	17,5	949,0	12,07	2,06	$8{,}5 \cdot 10^{-13}$	$8{,}70 \cdot 10^{-3}$	0,0039	3,4	3,6
3	0,0150	0,0126	0,04	17,5	954,0	12,15	1,98	$7{,}1 \cdot 10^{-13}$	$1{,}05 \cdot 10^{-2}$	0,0021	3,9	4,2

Mittel: $k_{\text{Dulcit}} = 3{,}5 \cdot 10^{-14}$.

Sorbit.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Sorbit	Konzentr.	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH′]	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-14}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-14}$ für $\gamma = 0{,}5$
1	0,0153	0,0129	0,2	17,5	943,0	12,01	2,12	$9{,}8 \cdot 10^{-13}$	$7{,}6 \cdot 10^{-3}$	0,0053	2,7	2,7
2	0,0153	0,0129	0,1	17,5	950,0	12,13	2,00	$7{,}4 \cdot 10^{-13}$	$1{,}0 \cdot 10^{-2}$	0,0029	2,1	2,3
3	0,0153	0,0129	0,1	17,5	949,0	12,11	2,02	$7{,}8 \cdot 10^{-13}$	$9{,}6 \cdot 10^{-3}$	0,0033	2,7	2,8

Mittel: $k_{\text{Sorbit}} = 2{,}5 \cdot 10^{-14}$.

In dieser Gruppe extrem schwacher Säuren, deren Dissoziationskonstante bisher mit einer über eine bloße Schätzung hinausgehenden Genauigkeit wohl kaum hätte bestimmt werden können, bewährt sich die Methode vorzüglich.

Daß bei den extrem kleinen Werten von Δ_{OH} die Genauigkeit der erhaltenen Zahl nicht überschätzt werden darf, ist selbstverständlich. Man sieht z. B. bei Sorbit, daß eine um nur 1 Millivolt abweichende Doppelbestimmung Differenzen um $\pm$ 10 bis 20% des Mittelwertes von k ergeben. Trotzdem dürfte es nur wenige von den gut studierten, etwas stärkeren Säuren geben, deren Dissoziationskonstante mit Sicherheit genauer bekannt ist als diese hier. Die Konstante des Glycerins ist nicht weit von der unteren Grenze der bisherigen Meßbarkeit entfernt.

5. Die Konstanten einiger Kohlenhydrate.

Galaktose.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Galaktose	Konz. der Galaktose	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H']	[OH']	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
1	0,0300	0,0252	0,2	18,3	911,0	11,44	2,66	$3,63 \cdot 10^{-12}$	$2,19 \cdot 10^{-3}$	0,0230	4,7	5,4
2	0,0300	0,0252	0,2	17,0	910,0	11,46	2,67	$3,47 \cdot 10^{-12}$	$2,14 \cdot 10^{-3}$	0,0231	4,5	5,2
3	0,0375	0,0315	0,2	17,0	918,0	11,58	2,55	$2,63 \cdot 10^{-12}$	$2,82 \cdot 10^{-3}$	0,0287	4,4	5,3
4	0,0300	0,0252	0,1	18,5	937,0	11,88	2,21	$1,32 \cdot 10^{-12}$	$6,20 \cdot 10^{-3}$	0,0190	3,1	4,0
5	0,0375	0,0315	0,1	18,5	944,0	12,00	2,09	$1,10 \cdot 10^{-12}$	$8,10 \cdot 10^{-3}$	0,0234	3,1	4,4

Das Mittel aus Versuch 1 bis 3 ergibt

$$k_{Galaktose} = 5,2 \cdot 10^{-13}.$$

$$\gamma_{Natrium\text{-}Galaktosat} = \text{etwas kleiner als } 0,5.$$

Saccharose.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Saccharose	Konz.	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H']	[OH']	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
1	0,0150	0,0126	0,5	19,0	887,0	11,00	3,07	$1,00 \cdot 10^{-11}$	$8,50 \cdot 10^{-4}$	0,01170	2,40	2,45
2	0,0150	0,0126	0,5	18,5	888,0	11,03	3,06	$9,35 \cdot 10^{-12}$	$8,70 \cdot 10^{-4}$	0,01170	2,24	2,30
3	0,0075	0,0063	0,5	19,0	867,0	10,65	3,42	$2,24 \cdot 10^{-11}$	$3,80 \cdot 10^{-4}$	0,00592	2,68	2,71
4	0,0075	0,0062	0,1	18,5	910,3	11,42	2,67	$3,81 \cdot 10^{-12}$	$2,14 \cdot 10^{-3}$	0,00536	2,15	2,28

Mittel: $k_{Saccharose} = 2,40 \cdot 10^{-13}$.

Fructose.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Fructose	Konzentration der Fructose	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H·]	[OH′]	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ Mittel	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$	$k \cdot 10^{-13}$ Mittel
1	0,0150	0,0126	0,2	18,5	876,0	10,82	3,27	$1,51 \cdot 10^{-11}$	$5,30 \cdot 10^{-4}$	0,0121	9,70	8,80	10,40	9,12
2	0,0150	0,0126	0,2	18,5	877,0	10,84	3,25	$1,45 \cdot 10^{-11}$	$5,60 \cdot 10^{-4}$	0,0120	9,25		9,88	
3	0,0150	0,0126	0,2	18,5	880,0	10,89	3,20	$1,29 \cdot 10^{-11}$	$6,30 \cdot 10^{-4}$	0,0120	8,24		8,80	
4	0,0153	0,0126	0,2	17,5	884,7	10,96	3,15	$1,10 \cdot 10^{-11}$	$7,10 \cdot 10^{-4}$	0,0119	7,00		7,40	
5	0,0300	0,0252	0,1	18,5	919,0	11,57	2,52	$2,70 \cdot 10^{-12}$	$3,02 \cdot 10^{-3}$	0,0222	7,70	8,27	10,80	9,88
6	0,0150	0,0126	0,1	18,5	899,0	11,22	2,87	$6,20 \cdot 10^{-12}$	$1,35 \cdot 10^{-3}$	0,0112	7,82		8,95	
7	0,0150	0,0126	0,1	18,5	895,0	11,15	2,94	$7,10 \cdot 10^{-12}$	$1,15 \cdot 10^{-3}$	0,0114	9,06		10,40	
8	0,0150	0,0126	0,1	18,5	899,0	11,22	2,87	$6,20 \cdot 10^{-12}$	$1,35 \cdot 10^{-3}$	0,0112	7,82		8,95	
9	0,0153	0,0129	0,1	17,5	897,2	11,18	2,93	$6,70 \cdot 10^{-12}$	$1,18 \cdot 10^{-3}$	0,0117	8,88		10,20	
10	0,0150	0,0126	0,05	18,5	914,5	11,49	2,60	$3,25 \cdot 10^{-12}$	$2,52 \cdot 10^{-3}$	0,0101	8,23	8,04	11,00	10,8
11	0,0150	0,0126	0,05	18,5	914,3	11,48	2,61	$3,30 \cdot 10^{-12}$	$2,46 \cdot 10^{-3}$	0,0101	8,35		11,20	
12	0,0150	0,0126	0,05	18,5	914,0	11,48	2,61	$3,30 \cdot 10^{-12}$	$2,46 \cdot 10^{-3}$	0,0101	8,35		11,20	
13	0,0153	0,0129	0,05	17,5	918,0	11,55	2,57	$2,82 \cdot 10^{-12}$	$2,70 \cdot 10^{-3}$	0,0102	7,22		9,70	

Wahrscheinlichster Wert

$$k_{\text{Fructose}} = 9,0 \cdot 10^{-13}.$$

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH] in derselben, ohne Mannose	Konzentr. der Mannose	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H·]	[OH']	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
								Mannose.				
1	0,0300	0,0252	0,2	18,3	895,0	11,16	2,94	$6,92 \cdot 10^{-12}$	$1,15 \cdot 10^{-3}$	0,0240	9,86	11,4
2	0,0375	0,0315	0,2	18,3	903,0	11,30	2,80	$5,02 \cdot 10^{-12}$	$1,59 \cdot 10^{-3}$	0,0299	8,82	10,7
3	0,0300	0,0252	0,2	17,0	894,0	11,17	2,96	$6,76 \cdot 10^{-12}$	$1,10 \cdot 10^{-3}$	0,0241	9,26	10,8
4	0,0375	0,0315	0,2	17,0	902,0	11,30	2,83	$5,02 \cdot 10^{-12}$	$1,48 \cdot 10^{-3}$	0,0300	8,85	10,8
5	0,0300	0,0252	0,1	18,5	918,0	11,55	2,54	$2,82 \cdot 10^{-12}$	$1,52 \cdot 10^{-3}$	0,0237	8,76	12,7
6	0,0375	0,0315	0,1	18,5	928,0	11,72	2,37	$1,91 \cdot 10^{-12}$	$4,27 \cdot 10^{-3}$	0,0272	7,19	11,5

Mittel aus 1 bis 4: $k_{Mannose} = 1,09 \cdot 10^{-12}$.

Maltose.

											$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
1	0,0153	0,0129	0,10	17,5	882,0	10,95	3,17	$1,12 \cdot 10^{-11}$	$6,80 \cdot 10^{-4}$	0,0122	15,6	18,1
2	0,0153	0,0129	0,05	17,5	902,6	11,29	2,84	$5,13 \cdot 10^{-12}$	$1,45 \cdot 10^{-3}$	0,0115	15,2	21,8
3	0,0153	0,0129	0,05	17,5	902,5	11,30	2,83	$5,02 \cdot 10^{-12}$	$1,48 \cdot 10^{-3}$	0,0114	14,8	21,0

Mittel: $k_{Maltose}$ $1,8 \cdot 10^{-12}$.

Lactose (Milchzucker).

											$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
1	0,0153	0,0129	0,2	16,5	883,5	10,99	3,15	$1,02 \cdot 10^{-11}$	$7,10 \cdot 10^{-4}$	0,0122	6,6	7,1
2	0,0153	0,0129	0,1	16,5	903,7	11,35	2,79	$4,47 \cdot 10^{-11}$	$1,63 \cdot 10^{-3}$	0,0113	5,2	6,5
3	0,0153	0,0129	0,1	16,5	904,0	11,35	2,79	$4,47 \cdot 10^{-11}$	$1,63 \cdot 10^{-3}$	0,0113	5,2	6,5

Mittel: $k_{Lactose} = 6 \cdot 10^{-13}$.

Raffinose.

											$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
1	0,0153	0,0129	0,10	18,5	928,0	11,72	2,37	$1,91 \cdot 10^{-12}$	$4,27 \cdot 10^{-3}$	0,0086	1,80	1,98
2	0,0153	0,0129	0,05	18,5	940,0	11,93	2,16	$1,18 \cdot 10^{-12}$	$6,90 \cdot 10^{-3}$	0,0060	1,61	1,86
3	0,0153	0,0129	0,05	18,5	940,0	11,93	2,16	$1,18 \cdot 10^{-12}$	$6,90 \cdot 10^{-3}$	0,0060	1,61	1,86

Mittel: $k_{Raffinose} = 1,8 \cdot 10^{-13}$.

Arabinose.

											$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
1	0,0153	0,0129	0,10	17,0	914,5	11,52	2,61	$3,02 \cdot 10^{-12}$	$2,45 \cdot 10^{-3}$	0,0105	3,54	4,01
2	0,0153	0,0129	0,10	17,0	912,8	11,49	2,64	$3,23 \cdot 10^{-12}$	$2,30 \cdot 10^{-3}$	0,0106	3,83	4,33
3	0,0153	0,0129	0,05	17,0	930,3	11,81	2,32	$1,55 \cdot 10^{-12}$	$4,80 \cdot 10^{-3}$	0,0081	3,00	3,72

Mittel: $k_{Arabinose} = 3,7 \cdot 10^{-13}$.

Vers. Nr.	Konzentration der NaOH	[OH'] in derselben, ohne Glucose	Konzentr. der Glucose	Temperatur °C	EMK	p_H	p_{OH}	[H']	[OH']	Δ_{OH}	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 1$	$k \cdot 10^{-13}$ für $\gamma = 0,5$
								Glucose.				
1	0,0153	0,0129	1,0	18,0	833,5	10,10	4,00	$8,0 \cdot 10^{-11}$	$1,00 \cdot 10^{-4}$	0,0128	10,4	10,5
2	0,0153	0,0129	1,0	18,0	834,0	10,11	3,99	$7,8 \cdot 10^{-11}$	$1,02 \cdot 10^{-4}$	0,0128	10,1	10,2
3	0,0153	0,0129	0,5	18,0	862,8	10,60	3,50	$2,5 \cdot 10^{-11}$	$3,17 \cdot 10^{-4}$	0,0126	6,5	6,6
4	0,0153	0,0129	0,5	18,0	862,5	10,6	3,50	$2,5 \cdot 10^{-11}$	$3,17 \cdot 10^{-4}$	0,0126	6,5	6,6
5	0,0053	0,0129	0,2	18,0	885,5	11,00	3,10	$1,0 \cdot 10^{-11}$	$8,00 \cdot 10^{-4}$	0,0121	6,4	6,9
6	0,0153	0,0129	0,2	18,0	888,0	11,04	3,06	$9,2 \cdot 10^{-12}$	$8,70 \cdot 10^{-4}$	0,0120	5,9	6,3
7	0,0153	0,0129	0,1	17,5	909,0	11,41	2,71	$3,9 \cdot 10^{-12}$	$1,95 \cdot 10^{-3}$	0,0109	4,3	5,4
8	0,0153	0,0129	0,1	17,5	909,0	11,41	2,71	$3,9 \cdot 10^{-12}$	$1,95 \cdot 10^{-3}$	0,0109	4,3	5,4

Mittel aus 3 bis 6: $k_{Glucose} = 6,6 \cdot 10^{-13}$.

Aus 1 und 2 kann man schließen, daß eine normale (18%ige!) Lösung von Glucose die Eigenschaften des Lösungsmittels schon ändert; aus 7 und 8 geht vielleicht hervor, daß γ noch kleiner als 0,5 ist, jedoch erlauben die wenigen Versuchszahlen noch keinen bindenden Schluß.

Benutzt wurden überall die reinsten Präparate von Kahlbaum.

Die verschiedenen Messungen bei ein und demselben Körper unter verschiedenen Bedingungen geben ziemlich befriedigende Übereinstimmung. Es wurde auch bei diesen Körpern versucht, durch Probieren denjenigen elektrolytischen Dissoziationsgrad des Natriumsalzes zu finden, bei dem die Konstanz der k-Werte für verschiedene Konzentrationen der zu messenden Säure am besten ist. In vielen Fällen gibt die Einführung dieser Korrektur keine, die Fehlergrenzen überschreitende Änderung der Konstanten, und zumeist ist auch die Übereinstimmung der aus verschiedenen Daten berechneten Konstanten doch nicht so gut, daß es einen Sinn hat, diese kleine Korrektur überhaupt zu berücksichtigen. Wenn wir in den Versuchen die Konstanten unter verschiedenen Annahmen für den elektrolytischen Dissoziationsgrad dennoch berechnet haben, so geschah das hauptsächlich, um zu zeigen, wie wenig Einfluß diese immerhin auf etwas willkürlichen Annahmen beruhende Korrektur hat. In dieser Serie von Messungen haben wir die wahrscheinlich übertriebene Annahme zugrunde gelegt, daß der Dissoziationsgrad des Salzes nur gleich 0,5 sei (letzte Spalte der Tabellen) und ferner die nach der anderen Seite übertriebene Annahme, daß derselbe gleich 1 sei. Die beiden Reihen von Zahlen unterscheiden sich dennoch nur wenig, so daß wir als end-

gültiges Resultat gewöhnlich das Mittel aus den Zahlen der vorletzten Kolumne wählten, unter Umständen auch das Mittel aus den Zahlen der letzten und vorletzten Kolumne zusammen.

Zum Schluß folge eine Zusammenstellung der erhaltenen Dissoziationskonstanten und ein Vergleich mit den von anderen Autoren auf andere Weise erhaltenen Zahlen:

Phenol:	$k_a = 5{,}81 \cdot 10^{-11}$ f. 17°	Walker[1]): $13 \cdot 10^{-11}$ (17°) Hantzsch[2]) $5 \cdot 10^{-9}$(!) (25°)
Glykokoll:	k_a $1{,}2 \cdot 10^{-10}$ f. 17,5°	Winkelblech[3]): $3{,}4 \cdot 10^{-10}$ f. 25°
	k_b $1{,}9 \cdot 10^{-12}$ f. 17,5°	„ $2{,}9 \cdot 10^{-12}$ f. 25°

Alkohole (alles für 17 bis 18°).

Äthylalkohol: nicht meßbar, d. h. $< 10^{-15}$

Glycerin:	$k_a = 0{,}7 \cdot 10^{-14}$	
Sorbit:	$2{,}5 \cdot 10^{-14}$	
Mannit:	$3{,}4 \cdot 10^{-14}$	
Dulcit:	$3{,}5 \cdot 10^{-14}$	

Pentosen.

Arabinose:	$3{,}7 \cdot 10^{-13}$	

Monosaccharide.

Glucose:	$6{,}6 \cdot 10^{-13}$	Osaka[4]): $5{,}9 \cdot 10^{-13}$ Euler[5]): $1{,}8 \cdot 10^{-13}$ (bei 0°) Madsen[6]): $3{,}6 \cdot 10^{-13}$ (bei 18°)
Galaktose:	$5{,}3 \cdot 10^{-13}$	
Fructose:	$8{,}8 \cdot 10^{-13}$	Euler[5]): $3{,}6 \cdot 10^{-13}$ (bei 0°) Madsen[6]): $6{,}6 \cdot 10^{-13}$ (bei 18°)
Mannose:	$10{,}9 \cdot 10^{-13}$	

Di- und Trisaccharide.

Saccharose:	$2{,}40 \cdot 10^{-13}$	Madsen[6]): $1{,}14 \cdot 10^{-13}$
Lactose:	$6{,}0 \cdot 10^{-13}$	
Maltose:	$18{,}0 \cdot 10^{-13}$	
Raffinose:	$1{,}8 \cdot 10^{-13}$	

---

1) Walker, Zeitschr. f. physikal. Chem. 32, 137, 1900.

2) A. Hantzsch, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 575, 1899.

3) Winkelblech, Zeitschr. f. physikal. Chem. 36, 546, 1906.

4) Osaka, Zeitschr. f. physikal. Chem. 35, 673.

5) H. Euler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39 (1), 344, 1906.

6) Th. Madsen, Zeitschr. f. physikal. Chem. 36, 290, 1901; Umrechnung der Zahlen nach Euler[5]).

Über die Abhängigkeit der Lipase von der Wasserstoffionenkonzentration.

Von

Heinrich Davidsohn.

(Aus dem Kinderasyl und Waisenhaus der Stadt Berlin.)

(Eingegangen am 2. Februar 1913.)

Mit 6 Figuren im Text.

I. Pankreaslipase.

In einer früheren Arbeit[1]) habe ich vergleichende Untersuchungen über die Lipase im Magensaft und Pankreasextrakt mitgeteilt. Es konnte damals ein so verschiedenes Verhalten der genannten Fermente gezeigt werden, daß eine befriedigende Erklärung der Ergebnisse nur in der Annahme zweier verschiedener Fermente gefunden wurde.

Ich mußte aber selbst die Bedeutung meiner Resultate einschränken, weil ich zwei nicht absolut miteinander vergleichbare Dinge in Parallele gesetzt hatte. Es wurde nämlich damals menschlicher Magensaft (nach Ewald-Boasschem Probefrühstück bei Erwachsenen gewonnen) mit tierischem Pankreasextrakt (Extrakte von Pankreatin-Rhenania, die nach Bericht der Firma aus Schweineorganen hergestellt sind) verglichen. Die zunächst folgenden Untersuchungen bilden nun eine erwünschte Ergänzung zu den bereits genannten, da sie an menschlichem Duodenalsaft angestellt sind und Zweifel über die Zugehörigkeit der im Duodenalsaft nachgewiesenen Lipase zum Pankreassekret wohl nicht bestehen.

Die hier verwendeten Duodenalsäfte stammen sämtlich von jungen Säuglingen. Zu ihrer Gewinnung bediente ich mich der Duodenalsonde von A. F. Heß[2]) und verfuhr dabei folgendermaßen: Etwa drei Stunden nach der letzten Mahlzeit wurde

[1]) H. Davidsohn, diese Zeitschr. 45, 284, 1912.

[2]) A. F. Heß, Americ. Journ. of Diseases of Children 1, 360, 1911.

der Magen entleert und gründlich gespült; dann wurde die Duodenalsonde eingeführt, und zwar anfangs schnell bis zu der bei 25 cm angebrachten Marke, dann langsam bis zur letzten Marke (35 cm von der Zahnreihe). Da ein Röntgenapparat zur Kontrolle der jeweiligen Stellung der Duodenalsonde nicht zur Verfügung stand, waren diese Versuche zum Teil mühsam. Man gelangt nämlich mitunter bei nicht pylorospastischen Kindern ganz unmerklich durch den Pylorus in das Duodenum, so daß man beim Fehlen der Kontrolle durch den Röntgenschirm unbedingt an eine fehlerhafte Sondierung glaubt und die Sonde bald wieder herauszieht, wenn nicht zufällig sehr schnell gallig gefärbtes Sekret zutage tritt. Nur in einem Teile der Fälle merkt man deutlich, etwa 30 cm hinter der Zahnreihe, daß man einen muskulösen Widerstand passiert. Da auch bei richtiger Sondierung mehrere Minuten (etwa 5 bis 10) vergehen können, bis die ersten Tropfen Sekret durch die Sonde entleert werden und das entleerte Sekret nicht stets gallig gefärbt zu sein braucht (siehe später), ist es natürlich sehr erwünscht, stets über die Lage der Sondenspitze orientiert zu sein.

Ich habe versucht, ob beim Fehlen eines Röntgenapparates eine Orientierung nicht durch Einblasen von Luft durch die Sonde und Auskultation des Geräusches mittels eines binauriculären Stethoskops möglich wäre, habe aber bisher keine sicheren Resultate bekommen.

Wenn man nun mit der Sonde das Duodenum erreicht hat, so sieht man nach einigen Minuten plötzlich, wie das Heß schon beschrieben hat, gallige Flüssigkeit hervorschießen. Dieses Spiel wiederholt sich, und man kann in einer Stunde bequem 20 bis 30 ccm Sekret gewinnen. In einem Versuch konnte ich beobachten, wie an Stelle der stark gallig gefärbten Flüssigkeit mit einem Male, ohne daß eine Veränderung in der Lage der Sonde stattgefunden hatte, ein wasserklares Sekret entleert wurde und erst geraume Zeit später wieder gallige Flüssigkeit folgte. Da das Mischsekret in diesem Falle einen auffallend hohen Fermentgehalt aufwies (die lipolytische Kraft war etwa 10mal stärker als gewöhnlich), muß die wasserklare Flüssigkeit wohl als reines Pankreassekret angesprochen werden, und das Fehlen einer galligen Färbung darf nicht immer als Beweis gegen die Herkunft des Sekrets aus dem Duodenum verwertet werden.

Zur Feststellung der Lipolyse bediente ich mich, wie früher, der stalagmometrischen Methode; ich gehe deshalb auf Einzelheiten der Methode nicht mehr ein.

Die Wasserstoffionenkonzentration in den einzelnen Flüssigkeiten wurde durch Anwendung der von Michaelis[1]) angegebenen „Regulatoren“ in leicht berechenbarer Weise hergestellt. Über Einzelheiten siehe die Protokolle. Da die gesättigte Tributyrinlösung vermutlich größere, aber nicht bestimmte Mengen von gelöster Buttersäure enthält, die eine nicht gewünschte Regulation der Acidität nach der sauren Seite hin bewerkstelligen, ist es nicht verwunderlich, daß die wirkliche Acidität speziell der alkalischen Flüssigkeiten von den berechneten zum Teil beträchtlich abweicht. Es sei bemerkt, daß die Affinitätskonstante der Buttersäure etwa so groß wie die der Essigsäure ist, nämlich $K = 1{,}5 \cdot 10^{-5}$. Es wurde deshalb bei den Hauptversuchen die Acidität nicht nur berechnet, sondern in der gewohnten Weise elektrometrisch gemessen.

Im allgemeinen wurde zunächst durch einen Vorversuch festgestellt, welche Mengen des Saftes hinzugesetzt werden mußten, um einen ausreichenden Umsatz an Tropfen in längstens $1^1/_2$ bis 2 Stunden zu erzielen, und dann mit der als geeignet festgestellten Menge der Hauptversuch angeschlossen.

Der erste Teil der früheren Untersuchungen bestand in der Feststellung der Konzentration von Natriumfluorid, die gerade nicht mehr imstande ist, die Lipolyse zn hemmen.

Beobachtungen von Loevenhart und Pierce[2]) sowie eigene Experimente schienen nämlich darauf hinzudeuten, daß es sich bei der Hemmung der Lipolyse durch Natriumfluorid vornehmlich um einen ferment-spezifischen Vorgang handelt. Bei einer Übertragung dieser Versuchsanordnung auf den Duodenalsaft des Säuglings habe ich in einer größeren Zahl von Einzeluntersuchungen — übereinstimmend mit den entsprechenden Resultaten bei der tierischen Pankreaslipase — gefunden, daß oft erst bei erheblicher Verdünnung (etwa 1 : 100000 und mehr) des Natriumfluorids die Hemmung auf die Lipolyse verschwindet.

---

[1]) L. Michaelis, Methoden zur Herstellung bestimmter Wasserstoffionenkonzentrationen. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 1910.

[2]) Loevenhart und Pierce, Journ. of Biolog. Chem. 2, Nr. 5, 1907.

Da aber andererseits in einigen Versuchen die Grenzkonzentration nur 1 : 10000 bis 1 : 40000 betrug und es nicht möglich gewesen ist, diese abweichenden Befunde ausreichend zu erklären, so muß angenommen werden, daß bei der hemmenden Wirkung der Lipolyse des Duodenalsaftes durch Natriumfluorid mehrere vorläufig nicht übersehbare Faktoren in Konkurrenz treten. Ich habe deshalb vorderhand davon Abstand genommen, diese Frage weiter zu verfolgen.

Dagegen haben die übrigen Untersuchungen, die dem zweiten Teile der früheren entsprechen und die Abhängigkeit der Lipolyse von der Wasserstoffionenkonzentration betreffen, zu einem überraschend eindeutigen Resultat geführt. Daß es sich bei dem Einflusse der Wasserstoffionen auf den Ablauf von Fermentprozessen tatsächlich um einen für jedes Ferment ckarakteristischen Vorgang handelt, muß nach den Untersuchungen der letzten Jahre als sichergestellt erscheinen und bedarf hier keiner Erörterung[1]).

Die Versuchsanordnung entsprach ganz der, wie sie in der ersten Arbeit beschrieben wurde. Zunächst wurde eine Anzahl kleinerer Versuche angestellt, bei der die [H˙] der einzelnen Lösungen grob differierte. Diese Versuche, die stets gleichmäßig ausfielen, sollen durch die Tabellen I bis III belegt werden.

Tabelle I.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten				[H˙] berechnet
		0	20	40	60	
1	0,09 ccm $^n/_3$-prim. Natriumphosphat 1,8 „ $^n/_3$-sek. „	160	130	123	120	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 „ $^n/_3$-prim. „ 1,65 „ $^n/_3$-sek. „	160	130	123	120	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$
3	1,00 „ $^n/_3$-prim. „ 1,00 „ $^n/_3$-sek. „	160	138	127	123	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 „ $^n/_3$-prim. „ 0,35 „ $^n/_3$-sek. „	160	145	137	130	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
5	1,00 „ $^n/_1$-Essigsäure 1,00 „ $^n/_1$-Natriumacetat	160	157	155	153	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$

[1]) Vgl. die zusammenfassenden Darstellungen von Sörensen, Asher-Spiros Ergebn. d. Physiol. **1912**, und von Michaelis, Handb. d. Biochem. **1913**.

Tabelle II.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten				[H˙] berechnet
		0	20	40	60	
1	0,09 ccm $^{m}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 1,8 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	165	148	143	138	$1,0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 „ $^{m}/_{3}$-prim. „ 1,65 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	165	153	147	142	$4,0 \cdot 10^{-8}$
3	1,00 „ $^{m}/_{3}$-prim. „ 1,00 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	165	155	151	149	$2,0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 „ $^{m}/_{3}$-prim. „ 0,35 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	165	157	154	154	$1,0 \cdot 10^{-6}$
5	1,00 „ $^{m}/_{1}$-Essigsäure 1,00 „ $^{m}/_{1}$-Natriumacetat	165	164	163	161	$1,8 \cdot 10^{-5}$

Tabelle III.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten				[H˙] berechnet
		0	20	40	60	
1	0,09 ccm $^{m}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 1,8 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	164	150	142	131	$1,0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 „ $^{m}/_{3}$-prim. „ 1,65 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	164	153	144	142	$4,0 \cdot 10^{-8}$
3	1,00 „ $^{m}/_{3}$-prim. „ 1,00 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	164	157	150	148	$2,0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 „ $^{m}/_{3}$-prim. „ 0,35 „ $^{m}/_{3}$-sek. „	164	158	156	154	$1,0 \cdot 10^{-6}$

Der verwendete Dünndarmsaft stammte von drei verschiedenen Kindern und war in Versuch 1 und 3 (entsprechend Tabelle I und III) 20fach verdünnt, in Versuch 2 sogar 200fach. Die jedesmal gebrauchte Menge betrug 0,5 ccm. Aus den drei Tabellen geht hervor, daß das Verhalten der menschlichen Pankreaslipase bei Variation der [H˙] absolut übereinstimmt mit dem, wie es früher als charakteristisch für die tierische Pankreaslipase erwiesen wurde, d. h. ein Optimum der Wirkung bei leicht alkalischer Reaktion aufweist und im Gebiet der schwachsauren Reaktion sehr schnell seine Wirksamkeit verliert. Am besten geht dieses Verhalten aus der graphischen Darstellung der Fig. 1 hervor, für die die Zahlen der Tabelle I verwendet wurden. Auf der Ordinate des rechtwinkligen Koordinatensystems sind die Umsätze, ausgedrückt durch die

Zahl der verbrauchten Tropfen, abgetragen und auf der Abszisse die Zeit in Minuten. Die den Kurven beigefügten Zahlen entsprechen den Versuchsnummern der Tabelle.

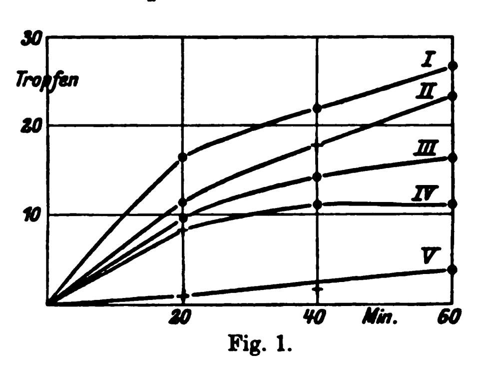


Fig. 1.

Die Optimalkurve entspricht einer [H˙] von $1 \cdot 10^{-8}$, die niedrigste Kurve einer [H˙] von $1{,}8 \cdot 10^{-5}$.

Nach diesen Vorversuchen erschien es mir aussichtsvoll, die Abhängigkeit der lipolytischen Wirkung von der [H˙] ganz exakt und mit feinerer Abstufung der Acidität zu untersuchen. Tabelle IV enthält das Protokoll einer solchen Versuchsanordnung, die aus 29 an acht verschiedenen Tagen angestellten Einzelversuchen besteht. Bezüglich der Methodik sei noch bemerkt, daß die Lösungen für diese Reihe zum Zwecke einer besseren Definierung der [H˙] einen höheren Regulatorzusatz enthielten, der in der Tabelle im einzelnen angegeben ist. Da aber das Volumen des Zusatzes nun so beträchtlich war, daß es die Tropfenzahl der Tributyrinlösung zweifellos vermindert hätte, wurde der Regulator mit unfiltrierter Tributyrinlösung auf 70 ccm aufgefüllt, innerhalb einiger Minuten mehrfach geschüttelt und dann erst filtriert. Die Tropfenzahl des Filtrats wurde als Wert der Zeit 0 angesehen, und 60 ccm des Filtrats wurden dann wie gewöhnlich mit 0,5 ccm Duodenalsaft zum Versuch vermischt. Es war nicht möglich, immer Filtrate mit gleicher Tropfenzahl für die verschiedenen Versuche zu erzielen, was wohl hauptsächlich auf die Variation der [H˙] zurückzuführen ist. Immerhin ist der Unterschied in der Anfangszahl der einzelnen Flüssigkeiten doch so gering, daß er unsere Betrachtungen über den Tropfenumsatz nicht wesentlich beeinflußt. Unter „Glykokoll“ ist die von Sörensen angegebene 0,1 normale Glykokollösung mit 0,1 normal Natriumchlorid zu verstehen. Mehrfache Kontrollversuche ohne Fermentzusatz sowohl zu den sauersten wie zu den alkalischsten der protokollierten Versuche haben gezeigt, daß eine Tri-

butyrinspaltung allein durch die anwesenden H- und OH-Ionen nicht stattfindet. Als Versuchstemperatur wurde die Zimmertemperatur von 18,5° ± 0,5° gewählt. Die an den verschiedenen Tagen im Zimmer beobachteten Temperaturschwankungen haben keinen merklichen Einfluß auf den Ablauf der Lipolyse ausgeübt.

Die [H˙] ist in den Versuchen dieser Reihe jedesmal genau elektrometrisch gemessen und in der 8. Kolumne der Tabelle IV angegeben, in der vorletzten Kolumne ihr Wasserstoffionenexponent.

Tabelle IV.

Nr.	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Min.					[H˙]	p_H	Relativer Fermentgehalt
		0	20	40	60	80	gemessen		
1	22,5 ccm Glykokoll 2,5 „ $^{n}/_{10}$-NaOH	148	132	123	118	116	$1{,}74 \cdot 10^{-8}$	7,76	1,05
2	0,3 „ $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 5,7 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	147	128	124	117	115	$1{,}55 \cdot 10^{-8}$	7,81	0,95
3	1,0 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 5,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	148	136	127	120	118	$4{,}37 \cdot 10^{-8}$	7,36	0,73
4	0,3 ccm $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 5,7 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	145	135	125	119	115	$2{,}82 \cdot 10^{-8}$	7,55	0,87
5	4,5 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 1,5 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	144	139	138	133	130	$5{,}13 \cdot 10^{-7}$	6,29	0,27
6	5,0 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 1,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	142	142	140	139	136	$8{,}91 \cdot 10^{-7}$	6,05	0,07
7	4,5 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 0,5 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	142	140	139	139	137	$2{,}14 \cdot 10^{-6}$	5,67	0,10
8	0,5 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 4,5 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	143	141	141	138	136	$2{,}95 \cdot 10^{-6}$	5,53	0,10
9	22,5 ccm Glykokoll 2,5 „ $^{n}/_{10}$-NaOH	150	130	126	121	121	$3{,}16 \cdot 10^{-9}$	8,50	1,29
10	0,3 „ $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 5,7 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	149	137	126	122	116	$1{,}82 \cdot 10^{-8}$	7,74	1,05
11	1,5 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 4,5 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	146	136	128	124	122	$6{,}46 \cdot 10^{-8}$	7,19	0,63
12	2,5 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 2,5 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	146	141	136	128	128	$1{,}78 \cdot 10^{-7}$	6,75	0,38
13	0,3 ccm $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 5,7 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	148	137	125	118	116	$1{,}51 \cdot 10^{-8}$	7,82	0,95
14	10,0 „ „ „	149	133	122	116	116	$4{,}47 \cdot 10^{-9}$	8,35	1,29
15	2,5 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 2,5 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	148	150	149	150	150	$2{,}34 \cdot 10^{-5}$	4,63	0,00
16	4,5 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 0,5 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	145	148	148	148	148	$1{,}91 \cdot 10^{-4}$	3,72	0,00

Tabelle IV (Fortsetzung).

Nr.	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Min.					[H˙]	p_H	Relativer Fermentgehalt
		0	20	40	60	80	gemessen		
17	22,5 ccm Glykokoll 2,5 „ $^n/_{10}$-NaOH	149	132	123	118	118	$6{,}92 \cdot 10^{-9}$	8,16	1,21
18	0,1 „ $^n/_3$-prim. Natriumphosphat 2,0 „ $^n/_3$-sek. „	148	140	133	121	118	$5{,}25 \cdot 10^{-8}$	7,28	0,73
19	0,35 „ $^n/_3$-prim. „ 1,65 „ $^n/_3$-sek. „	148	139	133	127	123	$8{,}13 \cdot 10^{-8}$	7,09	0,57
20	0,3 ccm $^n/_3$-prim. Natriumphosphat 5,7 „ $^n/_3$-sek. „	149	141	128	124	118	$1{,}59 \cdot 10^{-8}$	7,80	0,95
21	20,0 „ „ „	148	139	125	121	114	$1{,}32 \cdot 10^{-9}$	8,88	1,19
22	0,3 ccm $^n/_3$-prim. Natriumphosphat 5,7 „ $^n/_3$-sek. „	148	121	111	111	109	$2{,}89 \cdot 10^{-8}$	7,54	0,87
23	10,0 „ $^n/_3$-prim. „	147	148	146	144	146	$5{,}63 \cdot 10^{-5}$	4,25	0,00
24	5,0 „ $^n/_1$-Natriumacetat	148	139	132	126	120	$3{,}24 \cdot 10^{-7}$	6,49	0,24
25	0,3 ccm $^n/_3$-prim. Natriumphosphat 5,7 „ $^n/_3$-sek. „	150	139	131	125	123	$1{,}51 \cdot 10^{-8}$	7,82	0,95
26	10,0 „ „ „	150	140	129	126	119	$4{,}47 \cdot 10^{-9}$	8,35	1,09
27	20,0 „ „ „	150	142	130	123	122	$1{,}32 \cdot 10^{-9}$	8,88	0,97
28	5,7 „ $^n/_3$-prim. „ 0,3 „ $^n/_3$-sek. „	147	146	142	142	142	$1{,}80 \cdot 10^{-6}$	5,74	0,14
29	0,5 „ $^n/_3$-prim. „ 4,0 „ $^n/_3$-sek. „	150	140	134	127	123	$2{,}50 \cdot 10^{-8}$	7,60	0,84

Die Werte dieser Reihe harmonieren durchaus mit denen der früheren Versuche.

Wenn wir nun im folgenden die Abhängigkeit der Lipasenwirkung von der [H˙] eingehender diskutieren wollen, so bedienen wir uns zweckmäßigerweise der Annahme, die zuerst Michaelis und ich beim Studium des Invertins[1]) und Trypsins[2]) mit Erfolg angewendet haben; wir gingen damals von der Vorstellung aus, daß das Ferment nur bei bestimmter Acidität seine volle Wirksamkeit entfaltet, und daß bei anderer [H˙] ein wachsender Anteil des Fermentes in eine reversible unwirksame Form verwandelt wird. Für die Fermente, die, wie z. B. das Trypsin, als schwach amphotere Elektrolyte bereits sicher erwiesen sind, erscheint diese Annahme ohne weiteres

[1]) L. Michaelis und H. Davidsohn, diese Zeitschr. 35, 386, 1911.
[2]) L. Michaelis und H. Davidsohn, ibidem 36, 280, 1911.

berechtigt, da sie ja das Analogon darstellt zu der Wirkung der [H˙] auf die elektrolytische Dissoziation nicht fermentartiger, amphoterer Elektrolyte. Den Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme bei der Diskussion der Fermente hat schließlich die Identität der Dissoziationskurve der amphoteren Elektrolyte mit der Kurve, welche die Fermentwirkung als Funktion der [H˙] darstellt, geliefert.

Wenn nun auch das elektrische Verhalten der Lipase bisher noch nicht studiert ist, so erscheint doch die Heranziehung der gleichen Annahme jetzt bereits berechtigt, sobald eine deutliche Abhängigkeit der Fermentwirkung von der [H˙] beobachtet wird. Die folgenden Erörterungen werden zeigen, daß auch hier eine vollkommene Identität in der Abhängigkeit von der [H˙] zwischen Ferment und schwachem Elektrolyt zu erkennen ist; sie liefern eine weitere Stütze zu dem Versuch, den früher ganz unverständlichen Einfluß der [H˙] auf die Fermentwirkung einem allgemeinen physikalisch-chemischen Gesetze unterzuordnen.

Unsere Aufgabe besteht nun zunächst darin, aus den Zahlen der Tabelle IV den bei jeder beliebigen [H˙] noch wirksamen Anteil des Fermentes zu berechnen. Wir schlagen dabei den gleichen Weg wie in der bereits zitierten Arbeit ein, indem wir uns des allgemeingültigen Satzes der Fermentkinetik bedienen, daß bei konstanter Substratmenge die zur Erreichung eines bestimmten Umsatzes erforderlichen Zeiten umgekehrt proportional den verwendeten Fermentmengen sind. Wir brauchen dazu nur die bei irgendeiner annähernd optimalen [H˙] beobachteten Umsätze an Tropfen als Funktion der Zeit in ein Koordinatensystem einzutragen, wie dies in Fig. 2, entsprechend den fast identischen Versuchen Nr. 1 und 2 der Tabelle IV, geschehen ist, und erhalten dann eine Standardkurve für die Fermentmenge 1,0.

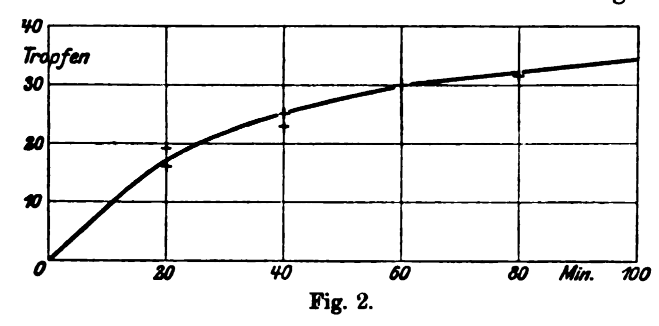


Fig. 2.

Um nun aus dieser Kurve die bei einer anderen [H˙] vorhandene wirksame Fermentmenge zu berechnen, wurden für die bei letzterer [H˙] beobachteten Umsätze x_1, x_2, x_3..., denen die Zeiten τ_1, τ_2, τ_3 ... entsprechen, auf der Standardkurve diejenigen Zeiten t_1, t_2, t_3 ... aufgesucht, die gleichfalls den Umsätzen x_1, x_2, x_3 ... entsprechen. Der relative Fermentgehalt φ entspricht dann den Quotienten $\frac{t_1}{\tau_1}$, $\frac{t_2}{\tau_2}$, $\frac{t_3}{\tau_3}$ ...; für jeden Versuch der Tabelle IV ist der Mittelwert dieser Quotienten berechnet und in der letzten Kolumne der Tabelle notiert worden. In einzelnen Versuchen ist, wie die Tabelle lehrt, bereits bei der dritten oder vierten Zählung Stillstand der Spaltung eingetreten; hier wurden natürlich nur die ersten Zählungen für die Berechnung verwertet.

Da nun aber die Versuche der Tabelle IV nicht alle gleichzeitig angesetzt werden konnten, so ist ein Vergleich der an den verschiedenen Tagen erhaltenen Resultate nicht ohne weiteres zulässig. Wir sehen im Gegenteil, daß der gleiche Versuch an verschiedenen Tagen nicht absolut identisch ausfällt (vgl. z. B. Nr. 2 und 25). Die Versuche jedes Tages sind von denen des folgenden Tages auf der Tabelle durch einen horizontalen Strich getrennt. Da aber an jedem Tage ein früherer Versuch als Kontrollversuch mit angesetzt ist, so ist aus dem Vergleich des relativen Fermentgehaltes dieser beiden Versuche leicht der Faktor zu berechnen, mit denen die Quotienten der Versuche von dem betreffenden Tage multipliziert werden müssen, um mit den übrigen vergleichbar zu werden. Die in der letzten Kolumne der Tabelle IV angegebenen Werte sind bereits derartig korrigiert.

Ich habe bei dieser Gelegenheit einige Untersuchungen über die Haltbarkeit der Lipase angeschlossen und gefunden, daß sie in dem unverdünnten oder höchstens zweifach verdünnten Duodenalsaft, wenn sie mit Thymolzusatz auf Eis aufbewahrt wird, monatelang gut haltbar ist. Dagegen verliert sie bereits, in 10 bis 20 facher Verdünnung aufbewahrt, innerhalb weniger Tage bis zu einem Drittel ihrer Wirksamkeit.

Wenn wir nun schließlich die so berechnete wirksame Fermentmenge graphisch als Funktion der [H˙] darstellen, indem wir die in der letzten Kolumne der Tabelle IV protokollierten Werte für φ (abzüglich derjenigen für die wiederholten Kontrollversuche) auf der Ordinate und die zugehörigen p_H auf der Abszisse

abtragen, wie dies in Fig. 3 geschehen ist, so erhalten wir eine Kurve, deren Übereinstimmung mit der Dissoziationskurve einer schwachen Säure oder mit der Dissoziationsrestkurve einer schwachen Base offensichtlich ist. Um welche von beiden es sich hier handelt, läßt sich beim Fehlen von Überführungsversuchen nicht mit Sicherheit entscheiden. Der Umstand aber, daß sie fast identisch ist mit der Kurve, die wir früher[1]), für ein anderes Pankreasferment, das Trypsin, festgestellt haben, läßt mit Wahrscheinlichkeit den Analogieschluß zu, daß es sich hier wie beim Trypsin um die Säuredissoziation eines amphoteren Elektrolyten handelt, und daß die Fermentnatur an die Lipaseanionen gebunden ist.

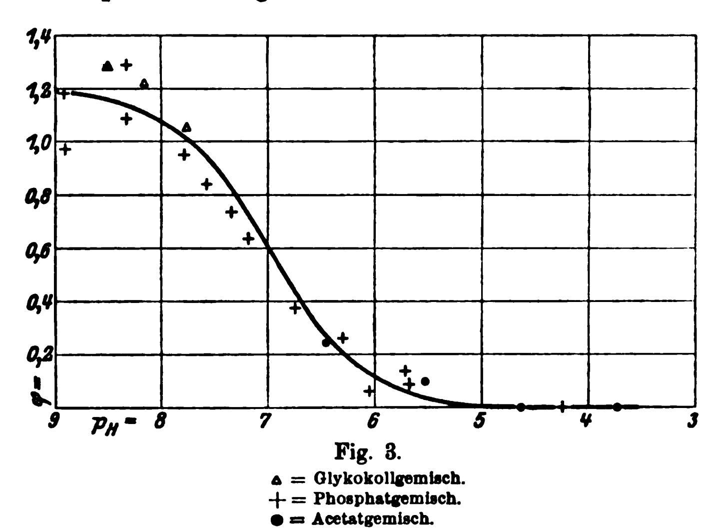


Fig. 3.
▲ = Glykokollgemisch.
+ = Phosphatgemisch.
● = Acetatgemisch.

Einer kurzen Erörterung bedarf noch die Frage, ob das Bereich der [H˙] nach der alkalischen Seite wirklich weit genug ausgedehnt ist, um von einem sicheren Optimum sprechen zu können. Noch stärkere Alkalinitäten anzuwenden war nicht möglich, da sie allein eine Spaltung des Tributyrins bewirkten. Außerdem bietet die Regulation der [H˙] gerade in diesem Bereiche gewisse Schwierigkeiten, die zurzeit noch nicht überwunden werden können. Wendet man nämlich hierfür das von Michaelis empfohlene Gemisch von Ammoniak und Ammoniumchlorid an,

[1]) L. Michaelis und H. Davidsohn, diese Zeitschr. 35, 386, 1911.

so hat man den Nachteil, daß diese Gemische elektrometrisch nicht zu messen sind. Bedient man sich aber des von Sörensen angegebenen Glykokollgemisches, so treten gewisse noch nicht ganz übersehbare Abweichungen auf, die deshalb hier nicht weiter erörtert werden sollen, sondern einem späteren Studium überlassen bleiben mögen.

Erfreulicherweise genügen aber die vorliegenden Untersuchungen zur Beantwortung der aufgeworfenen Frage. Denn die beiden bei $p_H = 8{,}88$ eingetragenen Werte beweisen schon, daß wir uns jenseits des Optimums befinden und daß das Optimum wohl bei $p_H = 8{,}5$ zu suchen ist. Jedenfalls haben wir also bei der Lipase keine breite Optimalzone; sie verhält sich auch hierin dem Trypsin ähnlich, im Gegensatz z. B. zum Invertin.

Sörensen hat mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß es eigentlich eine ziemlich willkürliche Annahme ist, zu glauben, daß im Optimalpunkte die ganze Enzymmenge wirksam sei. Es ist doch z. B. möglich, daß die Lipase ein amphoterer Elektrolyt mit einem zweibasischen Säurecharakter ist, daß aber nur die einwertigen Lipaseanionen fermentativ wirksam sind. Wenn nun die Dissoziation der zweiwertigen Anionen schon bei einer Acidität beginnt, bei der die Dissoziation der ersten Stufe noch nicht vollendet ist, so ist der oben skizzierte Fall verwirklicht, und der Optimalpunkt liegt auf der Kurve tiefer als der Ordinatenpunkt, der der Enzymmenge 1,0 entspricht.

Diese Frage läßt sich sowohl rechnerisch wie graphisch entscheiden. Rechnerisch, indem man nach dem Vorgange von Sörensen[1]) von zwei Werten, in denen nur die gewünschte Dissoziation in Frage kommen kann, nach der Formel

$$\varrho_a = \frac{1}{1 + \frac{K_a}{[H^{\cdot}]}}$$

den Dissoziationsrest berechnet, und durch nachträgliche Division beider die Dissoziationskonstante K_a, da $[H^{\cdot}]$ bekannt ist. K_a entspricht dann der halben Ordinatenhöhe.

---

[1]) Sörensen, l. c.

Die graphische Feststellung, nach dem Vorgange von L. Michaelis[1]), geht von der Überlegung aus, daß der mittlere Teil einer Dissoziationskurve, der ziemlich genau eine Gerade darstellt, die Horizontale unter einem ganz bestimmten Winkel schneiden muß. Da der Differentialquotient für diesen Punkt die Tangente des gesuchten Winkels darstellt, läßt sich letzterer leicht berechnen. Er beträgt, vorausgesetzt, daß der Maßstab für Ordinate und Abszisse gleich ist, fast genau 30°. Entspricht im speziellen Fall der vorliegende Winkel nicht obigem Wert, so läßt sich durch eine einfache Rechnung feststellen, um wieviel der vorliegende Maßstab verändert werden muß, damit der Ordinatenpunkt 1,0 mit Dissoziationsgrad 1,0 zusammenfällt.

Auf beide Weisen läßt sich zeigen, daß der Wert 1,2 unserer Fig. 3 dem Werte 1,0 der Fermentmenge entspricht. Die Annahme, daß bei dem Optimalpunkte die ganze Fermentmenge wirksam ist, trifft also in diesem Falle zu. Daß in unserer Kurve für den Optimalpunkt der Wert 1,2 statt 1,0 gesetzt ist, ist dem Umstande zuzuschreiben, daß für unsere Standardkurve der Bequemlichkeit halber die Fermentmenge 1,0 angenommen wurde, obwohl sie noch nicht optimal verlief.

Die auf der Fig. 3 ausgezogene Kurve stellt die Dissoziationskurve einer schwachen Säure mit der Dissoziationskonstante $K = 1{,}0 \cdot 10^{-7}$ dar; ihr Verlauf stimmt befriedigend mit den experimentell gefundenen Werten überein. Das wirksame Prinzip der Pankreaslipase ist also als eine schwache Säure mit der Konstante $K = 1{,}0 \cdot 10^{-7}$ aufzufassen; das Optimum der Lipolyse liegt bei $p_H = 8{,}5$ oder $[H^\cdot] = 3{,}2 \cdot 10^{-9}$. Dieser Wert verdient insofern Interesse, als er sehr gut übereinstimmt mit den neuesten, von Auerbach und Pick[2]) mitgeteilten Angaben über die Reaktion des tierischen Darm- und Pankreassaftes. Die letztgenannten Autoren haben nach elektrometrischen Untersuchungen an 3 Proben von Darmsaft und 19 Proben von Pankreassaft, die von lebenden Hunden aus permanenten Fisteln entnommen waren, für die dort vorhandene $[H^\cdot]$ als Mittelwert $5{,}0 \cdot 10^{-9}$ gefunden, mit der Einschränkung, daß dieser Wert wohl etwas zu alkalisch ist.

[1]) L. Michaelis, l. c.

[2]) Fr. Auerbach und H. Pick, Arb. d. Kais. Gesundheitsamts 43, 155, 1912.

Wenn bisher immer nur von der Bedeutung der H-Ionen auf den Fermentablauf gesprochen wurde, soll damit keineswegs behauptet werden, daß die Anionen ganz bedeutungslos sind. Die hier verwendete Versuchsanordnung ist nicht geeignet, diese Frage endgültig zu beantworten, da die Variation der Anionen viel zu gering ist. Allerdings müssen wir sagen, daß aus unseren Versuchen eine Bedeutung der Anionen nicht hervorgeht, obwohl einige Male die gleiche Acidität mit verschiedenen Regulatoren hergestellt ist, wie aus Fig. 3 zu ersehen ist, in der die einzelnen Regulatorgemische verschieden markiert sind.

Der hier gefundene Wert für das Optimum der Pankreaslipase ist etwas alkalischer als der in der früheren Arbeit für das entsprechende tierische Ferment angegebene, nämlich $3{,}2 \cdot 10^{-9}$ gegenüber $1{,}0 \cdot 10^{-8}$. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß bei den früheren Untersuchungen nur die Absicht bestand, das Optimum der Pankreaslipase von dem der Magenlipase als verschieden zu erweisen; es wurde deshalb damals auf eine ganz genaue Definition der $[H^{\cdot}]$ verzichtet. Da ferner erst infolge der jetzt verbesserten Versuchsanordnung die Möglichkeit gegeben war, mit der angewendeten Methode in Aciditäten tiefer als $1{,}0 \cdot 10^{-8}$ zu gelangen, so ist der frühere Wert nur als Annäherungswert anzusehen, der jetzt bestimmte als der bessere und Grund zur Annahme einer Divergenz in dem Optimum beider Lipasen nicht vorhanden.

II. Magenlipase.

Die im Vorstehenden für die menschliche Pankreaslipase festgestellte optimale $[H^{\cdot}]$ von $3{,}2 \cdot 10^{-9}$ unterscheidet sich beträchtlich von dem in der früheren Arbeit angegebenen Optimalwert für die Lipase des Magensaftes, der auf Grund von Untersuchungen am ausgeheberten Mageninhalt Erwachsener zu ungefähr $2{,}0 \cdot 10^{-6}$ angenommen wurde. Dieser Unterschied bestätigt die früher behauptete Verschiedenheit in den Eigenschaften der beiden untersuchten lipolytischen Fermente, die zu der Annahme einer eigenen Magenlipase führte. Ein weiteres Eingehen auf diese Frage erschien aber deshalb berechtigt, weil auch der Optimalwert der Magenlipase nur ein Annäherungswert war, der noch einer Präzisierung bedurfte. Außer-

Tabelle V.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten				$[H^{\cdot}]$ berechnet
		0	60	120	180	
1	0,09 ccm $^n/_{10}$-prim. Natriumphosphat 1,80 „ $^n/_{10}$-sek. „	162	156	145	135	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 „ $^n/_{10}$-prim. „ 1,65 „ $^n/_{10}$-sek. „	162	160	148	139	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$
3	1,00 „ $^n/_{10}$-prim. „ 1,00 „ $^n/_{10}$-sek. „	162	152	137	128	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 „ $^n/_{10}$-prim. „ 0,35 „ $^n/_{10}$-sek. „	162	150	138	123	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
5	1,80 „ $^n/_{10}$-prim. „ 0,09 „ $^n/_{10}$-sek. „	162	140	126	122	$4{,}0 \cdot 10^{-6}$

Tabelle VI.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten				$[H^{\cdot}]$ berechnet
		0	60	120	180	
1	0,09 ccm $^n/_{10}$-prim. Natriumphosphat 1,80 „ $^n/_{10}$-sek. „	164	155	143	134	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 „ $^n/_{10}$-prim. „ 1,65 „ $^n/_{10}$-sek. „	164	154	147	135	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$
3	1,0 „ $^n/_{10}$-prim. „ 1,0 „ $^n/_{10}$-sek. „	164	153	140	132	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 „ $^n/_{10}$-prim. „ 0,35 „ $^n/_{10}$-sek. „	164	147	139	129	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
5	1,0 „ $^n/_{10}$-Essigsäure 1,0 „ $^n/_{10}$-Natriumacetat	164	146	132	124	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
6	1,8 „ $^n/_{10}$-Essigsäure 0,2 „ $^n/_{10}$-Natriumacetat	164	147	135	127	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$

dem bestand die Möglichkeit, daß die Verhältnisse im Säuglingsmagen, die in mancher Hinsicht von denen beim Erwachsenen abweichen, ein differentes Verhalten der Magenlipase bedingen könnten. Aus diesen Gründen habe ich auch mit dem Magensaft der Säuglinge noch eine große Anzahl von Untersuchungen angestellt, über die im folgenden unter Mitteilung einiger Protokolle kurz berichtet werden soll.

Der Magensaft wurde in der Mehrzahl der Fälle $^3/_4$ Stunden nach einer Probemahlzeit von 100 g Gerstenschleim gewonnen,

Tabelle VII.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten 0	60	120	180	[H˙] berechnet
1	0,09 ccm n/10-prim. Natriumphosphat 1,80 " n/10-sek. "	164	160	151	144	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 " n/10-prim. " 1,65 " n/10-sek. "	164	153	148	142	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$
3	1,0 " n/10-prim. " 1,0 " n/10-sek. "	164	154	142	137	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 " n/10-prim. " 0,35 " n/10-sek. "	164	145	135	130	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
5	1,0 " n/10-Essigsäure 1,0 " n/10-Natriumacetat	164	140	129	121	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
6	1,8 " n/10-Essigsäure 0,2 " n/10-Natriumacetat	164	134	125	123	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$

Tabelle VIII.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten 0	60	120	180	[H˙] berechnet
1	0,09 ccm n/10-prim. Natriumphosphat 1,80 " n/10-sek. "	164	163	153	147	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 " n/10-prim. " 1,65 " n/10-sek. "	164	160	153	150	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$
3	1,0 " n/10-prim. " 1,0 " n/10-sek. "	164	152	146	140	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 " n/10-prim. " 0,35 " n/10-sek. "	164	145	138	127	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
5	1,0 " n/10-Essigsäure 1,0 " n/10-Natriumacetat	164	146	138	130	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
6	1,8 " n/10-Essigsäure 0,2 " n/10-Natriumacetat	164	160	140	132	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$

einige Male 2 Stunden nach der gewöhnlichen Mahlzeit. In der Regel wurde die Probenahrung morgens nüchtern verabfolgt, in einigen Versuchen mit Gerstenschleim aber $3^1/_2$ Stunden nach der Morgenmahlzeit. Im übrigen entsprach die Versuchsanordnung der früher beschriebenen. Es wurden stets 60 ccm der gesättigten wässerigen Tributyrinlösung mit 0,5 bis 1,0 ccm Magensaft und den in den Protokollen angegebenen Regulatormengen versetzt. Wenn der Magensaft nicht sofort nach der Gewinnung benutzt

Tabelle IX.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten 0	60	120	180	[H˙] berechnet
1	0,1 ccm n/3-prim. Natriumphosphat 2,0 " n/3-sek. "	162	161	157	155	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	1,0 " n/3-prim. " 1,0 " n/3-sek. "	162	156	151	148	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
3	1,65 " n/3-prim. " 0,35 " n/3-sek. "	162	150	145	137	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
4	1,0 " n/1-Essigsäure 1,0 " n/1-Natriumacetat	162	147	142	133	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
5	1,0 " n/1-Essigsäure 0,2 " n/1-Natriumacetat	162	142	138	130	$9{,}0 \cdot 10^{-5}$

Tabelle X.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten 0	60	120	180	[H˙] berechnet
1	0,35 ccm n/3-prim. Natriumphosphat 1,65 " n/3-sek. "	162	144	126	124	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	1,0 " n/3-prim. " 1,0 " n/3-sek. "	162	126	122	123	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
3	1,6 " n/3-prim. " 0,35 " n/3-sek. "	162	128	124	120	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
4	1,0 " n/1-Essigsäure 1,0 " n/1-Natriumacetat	162	123	123	122	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
5	1,0 " n/2-milchsaures Natron 0,5 " n/1-Milchsäure	162	125	122	123	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$

werden konnte, wurde er mit Thymol im Eisschrank aufbewahrt, da es sich gezeigt hatte, daß er dort einige Tage ohne wesentliche Veränderung der lipolytischen Fähigkeit bleiben konnte, vorausgesetzt, daß die Reaktion nicht zu sauer war.

Tabellen V bis XII illustrieren die Versuche mit acht verschiedenen Magensäften, die von sechs verschiedenen Kindern nach Gerstenschleim als Probemahlzeit gewonnen wurden. Der Magensaft von Tabelle XIII wurde 2 Stunden nach 200 g Malzsuppe entleert. Zahlreiche Kontrollversuche haben mit dem protokollierten gut übereinstimmt.

Tabelle XI.

	Reaktionsflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten			[H˙] berechnet
		0	60	120	
1	0,1 ccm $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 2,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	162	135	131	$1,0 \cdot 10^{-8}$
2	1,0 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 1,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	162	123	111	$2,0 \cdot 10^{-7}$
3	1,65 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 0,35 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	162	122	113	$1,0 \cdot 10^{-6}$
4	1,0 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,0 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	162	118	112	$1,8 \cdot 10^{-5}$
5	1,0 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 0,2 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	162	119	112	$9,0 \cdot 10^{-5}$
6	1,0 „ $^{n}/_{1}$-Milchsäure 0,2 „ $^{n}/_{2}$-milchsaures Natron	162	120	112	$1,4 \cdot 10^{-3}$

Tabelle XII.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten				[H˙] berechnet
		0	60	120	180	
1	0,1 ccm $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 2,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	148	144	141	136	$1,0 \cdot 10^{-8}$
2	1,0 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 1,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	148	140	133	127	$2,0 \cdot 10^{-7}$
3	1,65 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 0,35 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	148	135	126	118	$1,0 \cdot 10^{-6}$
4	1,0 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,0 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	148	132	121	114	$1,8 \cdot 10^{-5}$
5	1,0 „ $^{n}/_{1}$ Essigsäure 0,2 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	148	129	120	115	$9,0 \cdot 10^{-5}$
6	1,0 „ $^{n}/_{1}$-Milchsäure 0,2 „ $^{n}/_{2}$-milchsaures Natrium	148	135	124	116	$1,4 \cdot 10^{-3}$

Die Tabellen zeigen, daß die Lipase der untersuchten Magensäfte ebenso wie die Pankreaslipase eine bedeutende Abhängigkeit von der [H˙] besitzt, nur mit dem Unterschied, daß das Optimum hier bei deutlich saurer Reaktion liegt. In Fig. 4, die aus den Zahlen der Tabelle XII zusammengesetzt ist, ist dieses Verhalten wie vorher graphisch dargestellt.

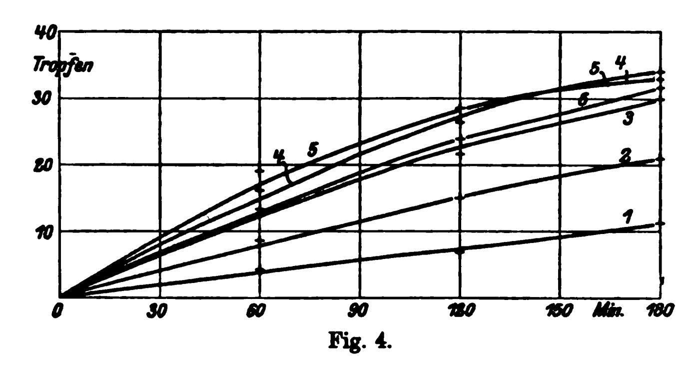


Fig. 4.

Man sieht, daß die Optimalkurve einer berechneten Acidität von $9{,}0 \cdot 10^{-5}$ entspricht, während die Kurve, die sich nur wenig von der Horizontalen erhebt, bei einer $[H^{\cdot}]$ von $1{,}0 \cdot 10^{-8}$ beobachtet wurde.

Tabelle XIII.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten					$[H^{\cdot}]$ berechnet
		0	20	40	60	80	
1	0,1 ccm $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 2,0 " $^{n}/_{3}$-sek. "	145	143	139	136	133	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	1,0 " $^{n}/_{3}$-prim. " 1,0 " $^{n}/_{3}$-sek. "	145	138	132	126	121	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
3	1,8 " $^{n}/_{3}$-prim. " 0,18 " $^{n}/_{3}$-sek. "	145	134	127	122	119	$2{,}0 \cdot 10^{-6}$
4	0,18 " $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,8 " $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	145	134	126	122	118	$1{,}8 \cdot 10^{-6}$
5	1,0 " $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,0 " $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	145	132	127	122	117	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
6	0,9 " $^{n}/_{1}$-Essigsäure 0,18 " $^{n}/_{1}$-Natriumacetat 0,9 " destilliertes Wasser	145	133	126	122	117	$9{,}0 \cdot 10^{-5}$
7	1,8 " $^{n}/_{1}$-Essigsäure 0,18 " $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	145	135	126	122	117	$1{,}8 \cdot 10^{-4}$
8	0,65 " $^{n}/_{1}$-Milchsäure 1,3 " $^{n}/_{2}$-milchsaures Natron	145	137	127	121	117	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$
9	1,7 " $^{n}/_{1}$-Milchsäure 0,34 " $^{n}/_{2}$-milchsaures Natron	145	135	129	126	119	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$

Auf demselben Wege wie im ersten Teile der Arbeit ist nun auch hier der Versuch gemacht worden, den Einfluß der $[H^{\cdot}]$ auf die Fermentwirkung genauer zu studieren. Doch

erschien es mir bei der Magenlipase zweckmäßig, den Satz, daß bei gleichem Umsatz die Fermentmengen den verbrauchten Zeiten umgekehrt proportional sind, schon zum Beweis für die Brauchbarkeit der Methode noch experimentell zu erhärten. Die Tabellen XIV bis XVII enthalten die Protokolle von 4 Versuchen, die bei sonst gleichem Substrat wechselnde Fermentmengen enthalten. In Fig. 5 sind alle diese Werte in ein rechtwinkliges Koordinatensystem gezeichnet, auf dessen Ordinate die Umsätze und auf dessen Abszisse die Produkte: Fermentmenge × verbrauchter Zeit ($\varphi \cdot \vartheta$) abgetragen wurden.

Tabelle XIV.

60 ccm Tributyrinlösung
1,0 " n/1-Essigsäure
1,0 " n/1-Natrumacetat und
1,0 " Magensaft

Zeit in Minuten	Umsatz in Tropfen (x)	$\varphi \cdot \vartheta$
0	—	—
20	14	80
40	25	160
60	30	240
90	35	360
120	34	480

Tabelle XV.

Wie Tabelle XIV zusammengesetzt, aber 0,75 ccm Magensaft.

Zeit in Minuten	Umsatz in Tropfen (x)	$\varphi \cdot \vartheta$
0	—	—
20	9	60
40	20	120
60	26	180
90	32	270

Tabelle XVI.

Wie Tabelle XIV zusammengesetzt, aber 0,5 ccm Magensaft.

Zeit in Minuten	Umsatz in Tropfen (x)	$\varphi \cdot \vartheta$
0	—	—
20	6	40
40	17	80
60	22	120
90	29	180
130	31	260

Tabelle XVII.

Wie Tabelle XIV zusammengesetzt, aber 0,25 ccm Magensaft.

Zeit in Minuten	Umsatz in Tropfen (x)	$\varphi \cdot \vartheta$
0	—	—
20	5	20
40	9	40
60	13	60
90	16	90

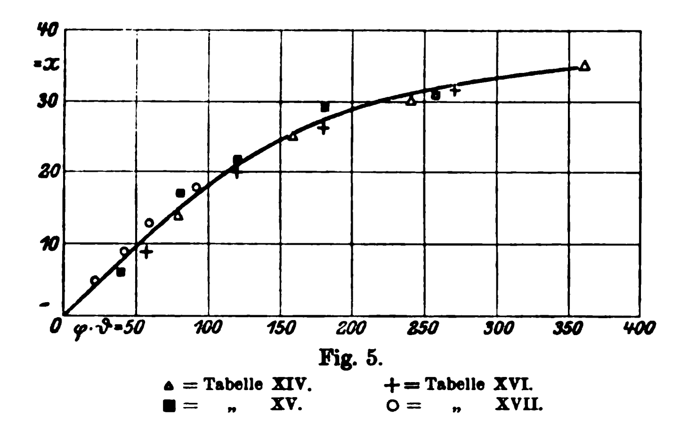


Fig. 5.

▲ = Tabelle XIV. + = Tabelle XVI.
■ = „ XV. ○ = „ XVII.

Es resultiert so eine einheitliche Kurve, wodurch die Gültigkeit des genannten Satzes und die Brauchbarkeit der verwendeten Methode bewiesen wird.

Es wurde deshalb nun ein Hauptversuch durchgeführt, der zur Berechnung des relativen Fermentgehaltes (φ) dienen sollte. In dieser Versuchsreihe ist die [H˙] jedesmal elektrometrisch gemessen. Kontrollversuche ohne Fermentzusatz haben gezeigt, daß selbst bei einer Acidität, entsprechend einem $p_H = 2{,}5$, d. h. dem sauersten der Versuche, eine Spaltung des Tributyrins durch die H-Ionen allein nicht zu konstatieren ist.

Tabelle XVIII enthält das Protokoll dieser Versuchsreihe; in der letzten Kolumne der Tabelle befinden sich die für den relativen Fermentgehalt wie im 1. Teile berechneten Werte. Trägt man wie vorher bei der Pankreaslipase den relativen Fermentgehalt (φ) auf der Ordinate und die negativen Logarithmen der [H˙] auf der Abszisse eines rechtwinkligen Koordinatensystems ab, so resultiert Fig. 6.

Die ausgezogene Kurve der Fig. 6 stellt die Dissoziationskurve einer schwachen Base resp. die Dissoziationsrestkurve einer schwachen Säure mit der Konstante $K = 4{,}5 \cdot 10^{-7}$ dar. Die experimentell gefundenen Werte für den relativen Fermentgehalt der Magenlipase als Funktion des negativen Logarithmus der [H˙] stimmen mit dieser Kurve in ausreichender Weise überein und bestätigen die Vermutung, daß auch die Magen-lipase als schwacher Elektrolyt anzusehen ist, dessen Dissoziations-

Tabelle XVIII.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten					[H˙] gemessen	p_H	Relativer Ferment-gehalt
		0	20	40	60	80			
1	0,1 ccm $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 2,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	145	146	145	145	142	$2{,}34\cdot10^{-8}$	7,63	0,03
2	1,0 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 1,0 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	145	144	140	136	133	$2{,}23\cdot10^{-7}$	6,65	0,37
3	1,8 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 0,18 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	145	139	133	128	124	$7{,}08\cdot10^{-6}$	5,15	0,82
4	0,18 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,8 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	145	138	133	128	124	$3{,}63\cdot10^{-6}$	5,44	0,88
5	1,0 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,0 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	145	139	131	126	122	$2{,}19\cdot10^{-5}$	4,66	1,00
6	1,8 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 0,18 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	145	138	130	126	121	$1{,}59\cdot10^{-4}$	3,80	1,00
7	0,65 „ $^{n}/_{1}$-Milchsäure 1,3 „ $^{n}/_{3}$-milchsaures Natron	145	139	132	128	123	$1{,}59\cdot10^{-4}$	3,80	0,88
8	1,7 „ $^{n}/_{1}$-Milchsäure 0,34 „ $^{n}/_{3}$-milchsaures Natron	145	139	132	129	123	$1{,}35\cdot10^{-3}$	2,87	0,81
9	1,0 ccm $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,0 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	146	137	130	124	120	$2{,}19\cdot10^{-5}$	4,66	1,00
10	0,35 „ $^{n}/_{3}$-prim. Natriumphosphat 1,65 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	146	144	143	140	139	$6{,}46\cdot10^{-8}$	7,19	0,22
11	0,5 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 1,5 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	146	143	141	139	138	$7{,}59\cdot10^{-8}$	7,12	0,31
12	1,65 „ $^{n}/_{3}$-prim. „ 0,35 „ $^{n}/_{3}$-sek. „	146	135	126	122	119	$2{,}75\cdot10^{-6}$	5,56	1,06
13	17,5 ccm Glykokoll 7,5 „ $^{n}/_{10}$-Salzsäure } auf 75,0	145	140	140	138	—	$3{,}16\cdot10^{-3}$	2,50	0,68
14	22,5 „ Glykokoll 2,5 „ $^{n}/_{10}$-Natronlauge } „ 75,0	147	144	146	145	—	$2{,}88\cdot10^{-9}$	8,54	0,00
15	17,5 „ Glykokoll 7,5 „ $^{n}/_{10}$-Natronlauge } „ 75,0	147	146	145	142	—	$4{,}07\cdot10^{-10}$	9,39	0,04
16	1,0 „ $^{n}/_{1}$-Essigsäure 1,0 „ $^{n}/_{1}$-Natriumacetat	147	141	136	130	—	$2{,}19\cdot10^{-5}$	4,66	1,00

grad den relativen Fermentgehalt bedingt. Daß die Übereinstimmung der experimentell gefundenen Werte mit den berechneten hier nicht so ideal ist wie z. B. beim Invertin, kann in Anbetracht der verwendeten Methoden nicht weiter wundernehmen. Die Fehlerquellen bei der polarimetrischen Bestimmung der Zuckerspaltung sind natürlich viel geringer als die bei der

stalagmometrischen Beobachtung der Lipolyse, die wohl auf mindestens $\pm 10\%$ zu schätzen sind. Wenn also auch die vorliegende Kurve der Fig. 6 wohl nicht geeignet wäre zur Ableitung des allgemeinen Prinzips, das wir auf Grund der Untersuchungen am Invertin und Trypsin für die Abhängigkeit der Fermentwirkung von der [H˙] aufgedeckt haben, so gestattet sie jedoch mit Sicherheit wenigstens die Konstatierung der Tatsache, daß der ganze Abfall der Fermentwirkung von 1,0 bis 0,0 sich in einem Bereich von kaum mehr als zwei

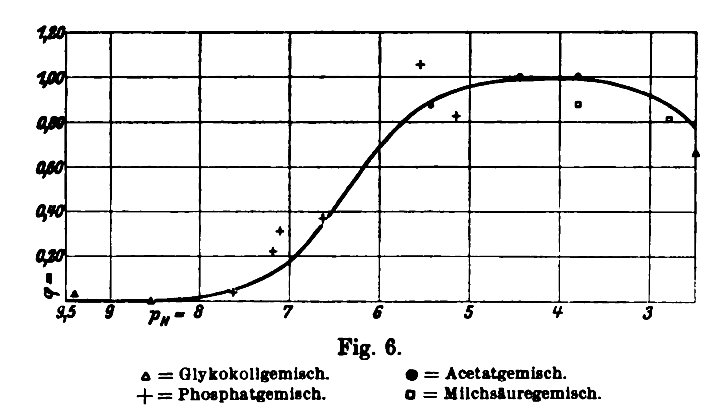


Fig. 6.

▵ = Glykokollgemisch. ● = Acetatgemisch.
+ = Phosphatgemisch. ▫ = Milchsäuregemisch.

Zehnerpotenzen von Wasserstoffionenkonzentrationen vollzieht. Und gerade dieses Verhalten ist es ja, das wir, gestützt auf die bereits vorliegenden Untersuchungen, als beweisend dafür ansehen, daß der Einfluß der [H˙] auf die Fermentwirkung durch die Dissoziation eines schwachen Ampholyten zu erklären ist.

Die Frage, welche Art der Dissoziation hier vorliegt, ob Basen- oder Säurendissoziation, kann erst durch Überführungsversuche endgültig entschieden werden. Da aber die vorliegende Kurve große Übereinstimmung mit der entsprechenden Kurve für das Invertin zeigt, so sei im Interesse der Darstellung der Analogieschluß gestattet, daß es sich hier wie beim Invertin um die Dissoziationsrestkurve einer schwachen Säure handelt, mit der Dissoziationskonstante $K_a = 4{,}5 \cdot 10^{-7}$, und daß das wirksame Prinzip der Magenlipase an den Dissoziationsrest gebunden ist. Das Optimum der Lipasenwirkung stellt eine ziemlich breite, nicht ganz genau zu umgrenzende Zone dar.

Es liegt bei einer [H˙] etwa von 10^{-5} bis 10^{-4}. Es würde, wenn unsere Vermutung richtig ist, dem isoelektrischen Punkt des Fermentes entsprechen.

In der früheren Mitteilung wurde auf Grund der Untersuchungen am Magensaft Erwachsener das Optimum der Magenlipase bei einer berechneten [H˙] von etwa $2{,}0 \cdot 10^{-6}$ angenommen; dabei ist aber zu bedenken, daß in Aciditäten unter $1 \cdot 10^{-5}$ die wahre Acidität infolge der gelösten Buttersäure immer saurer sein muß als die berechnete, besonders wenn wie früher regelmäßig nur ein geringer Regulatorzusatz gewählt wurde. Es wird dadurch verständlich, daß das genau bestimmte Optimum bei höherer Acidität liegt. Trotzdem beträgt die Differenz zwischen dem früheren angenäherten Wert und dem jetzt gefundenen nur $10\,^0/_0$ der Enzymmenge, berechnet nach Kurve Fig. 6, liegt also noch im Bereich der Fehlerquellen der Methode und erlaubt nicht, eine Differenz in dem Verhalten der Magenlipase beim Erwachsenen und beim Säugling anzunehmen.

Die bei sauerer als optimaler [H˙] angestellten Versuche scheinen den Beginn einer Kurve anzudeuten, die ungefähr in der gleichen Weise abfällt wie der diesseits des Optimums gelegene Teil ansteigt. Es ist daraus der Schluß zu ziehen, daß eine wesentliche Selbstzerstörung der Lipase in dem untersuchten Bereich (bis $p_H = 2{,}5$) und unter den angewendeten Versuchsbedingungen von Zeit und Temperatur nicht stattfindet; vielmehr läßt sich dieser regelmäßige Abfall der Fermentwirkung in Anlehnung an die erwähnte Auffassung von dem elektrochemischen Charakter der Magenlipase als Beginn einer basischen Dissoziation des Ampholyten deuten. Die basische Konstante wäre schätzungsweise mit $K = 10^{-12}$ anzunehmen.

Jedenfalls geht aus diesen Betrachtungen im Vergleich zu denen im ersten Teile hervor, daß die im Magen- und Duodenalsaft nachgewiesenen lipolytischen Fermente sich bezüglich ihrer Abhängigkeit von der [H˙] und demnach in ihren elektrischen Charakteren so weitgehend unterscheiden, wie sie nur durch die Annahme zweier verschiedener Fermente befriedigend erklärt werden können.

Ein weiteres Interesse besitzen speziell die Untersuchungen über das Optimum der [H˙] bei der Magenlipase für die Dis-

kussion der Acidität im Säuglingsmagen. Nach den Untersuchungen von **mir**[1]) und **Salge**[2]) liegt die Acidität im Säuglingsmagen auf der Höhe der Verdauung durchschnittlich in einem Bereich von 10^{-6} bis 10^{-4}. Diese Acidität ist ungünstig für die Pepsinverdauung, sie begünstigt dagegen die Labwirkung und die Chymosinverdauung des Caseins [**van Dam**[3])], den Fortgang der Diastasierung durch das Speichelptyalin, da das Optimum hierfür bei einer $[H^{\cdot}]$ von $1 \cdot 10^{-6}$ gefunden wurde, und auf Grund der vorstehenden Untersuchungen auch die Lipolyse im Magen. In teleologischer Beziehung ist die Acidität des Säuglingsmagens daher als zweckmäßig anzusehen.

Die Divergenz in der optimalen Acidität der beiden untersuchten Lipasen habe ich bei den weiteren Untersuchungen zur Entscheidung der Frage benutzt, ob in der vorliegenden Flüssigkeit Magen-, Pankreaslipase oder beide zugleich vorhanden sind. Zu dem Zwecke wurden drei Tributyrinlösungen hergestellt, die durch Regulatorzusatz (vgl. die Tabellen) auf eine Acidität von $p_H = 8{,}0 \cdot 6{,}5$ resp. 5,0 gebracht wurden. Alle drei Gemische wurden mit der gleichen Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit versetzt und nach 20 bis 30 Minuten Zwischenraum 2 bis 3 mal in der gewohnten Weise gemessen. Zeigte sich hierbei, daß der Umsatz an Tropfen von der alkalischen nach der sauren Flüssigkeit zu abnahm, so lag Pankreaslipase vor, bei umgekehrtem Verhalten Magenlipase, und zeigte sich ein unregelmäßiger Ablauf der Spaltung, so waren beide zugleich vorhanden. Diese Methode habe ich bei meinen Untersuchungen vielfach mit Erfolg verwendet, vorausgesetzt, daß Verdauungsflüssigkeiten künstlich genährter Kinder zur Untersuchung standen.

Wendet man diese Methode bei dem Mageninhalt von Brustkindern an, so beobachtet man gleichfalls das oben geschilderte unregelmäßige Verhalten. In diesem Falle handelt es sich aber in der Regel nicht um eine störende Beimischung von Pankreassaft, sondern um das der Frauenmilch eigene

---

[1]) **H. Davidsohn**, Zeitschr. f. Kinderheilk. **2**, 420, 1911 und **4**, 208, 1912.

[2]) **Salge**, ibidem **4**, 171, 1912.

[3]) **van Dam**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **61**, 147, 1909.

lipolytische Ferment (vgl. dazu Teil III). Als Beweis dafür dienten Kontrollversuche mit gekochter Brustmilch; der Mageninhalt eines derartig gefütterten Kindes gab wie gewöhnlich die optimale Spaltung in der sauren Flüssigkeit.

Zahlreiche Untersuchungen in der geschilderten Weise wurden mit den Magensäften von Säuglingen angestellt, die mit den üblichen Milchmischungen, sowie mit Malzsuppe und der fettreichen Eiweißmilch ernährt waren. In diesen Fällen wurde der Mageninhalt 2 Stunden nach der Morgenmahlzeit entleert. Nur 1 Magensaft (nach Malzsuppe) zeigte das auf eine Beimischung von Pankreassaft deutende Verhalten. Gerade dieses Kind wurde vorher und nachher noch mehrfach ausgehebert, und sein Magensaft zeigte sonst allemal das gewöhnliche Verhalten. Ob der Pankreassaft in diesem Falle von selbst in den Magen geflossen ist oder bei der Ausheberung die Magensonde zufällig in das Duodenum geraten ist, läßt sich natürlich nicht mit Sicherheit entscheiden. In Anbetracht der leichten Durchgängigkeit des Pylorus bei normalen Kindern und der beim Säugling gewöhnlich angewendeten dünnen Magensonden erscheint mir die letztere Möglichkeit viel wahrscheinlicher. Jedenfalls ist nach meinen Untersuchungen die Befürchtung, daß beim Säugling unter Anwendung der üblichen Nahrungsgemische häufig ein Zurückfließen von Pankreassaft in den Magen stattfinden könnte, grundlos.

III. Lipase im Blutserum und in der Frauenmilch.

In diesem Zusammenhange erschien es mir noch des Interesses wert zu untersuchen, wie die übrigen im menschlichen Organismus nachgewiesenen lipolytischen Fermente auf Grund der Abhängigkeit von der [H˙] einzuordnen sind. In Frage kommt die Lipase des Serums, die in jüngster Zeit durch Rona und Michaelis[1]) genauer studiert worden ist, sowie die Lipase der Frauenmilch. Über die Lipase des Serums hat Rona[2]) einige diesbezügliche Versuche angestellt, die eine gewisse Orientierung gestatten. Rona hat ein Bereich an Wasserstoffionenkonzentrationen von $1 \cdot 10^{-3}$ bis $1 \cdot 10^{-10}$ in großen Ab-

[1]) P. Rona und L. Michaelis, diese Zeitschr. **31**, 345, 1911.
[2]) P. Rona, ibidem **33**, 413, 1911.

ständen untersucht und kommt zu dem Resultat, daß in dem Reaktionsbereich von $1 \cdot 10^{-7}$ bis $2{,}6 \cdot 10^{-9}$ das Ferment seine Wirksamkeit am besten entfalten kann.

Es sei hier auf eine interessante Tatsache hingewiesen, für die vorläufig eine befriedigende Erklärung noch nicht zu geben ist. Während die Serumlipase, wie aus den Untersuchungen der genannten Autoren ersichtlich ist, die Tributyrinlösung durchgehends vollständig, d. h. bis zur Erreichung des Wasserwertes spaltet, hört die Wirkung der Pankreas- und der Magenlipase bereits bei einem etwas früheren Werte auf. Die gleich zu besprechende Lipase der Frauenmilch wiederum erreicht fast den Endwert und entspricht mehr der Serumlipase. Die Aufklärung dieser Verschiedenheiten in der fermentativen Spaltung muß späteren Untersuchungen überlassen bleiben.

Die Lipase der Frauenmilch, die sowohl in der Milch wie in der Molke nachweisbar ist, ist meines Wissens in dieser Richtung bisher noch nicht studiert worden. Ich habe deshalb einige einschlägige Untersuchungen angestellt. Als Beispiel eines derartigen Versuchs diene Tabelle XIX, die eine in der üblichen Weise angesetzte Reihe mit dem Zusatz von je 1,0 ccm Brustmilch wiedergibt.

Tabelle XIX.

	Regulatorflüssigkeit	Tropfenzahl nach Minuten				[H˙] berechnet
		0	20	40	60	
1	0,09 ccm n/3-prim. Natriumphosphat 1,8 „ n/3-sek. „	146	112	110	108	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$
2	0,35 „ n/3-prim. „ 1,65 „ n/3-sek. „	146	117	115	108	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$
3	1,0 „ n/3-prim. „ 1,0 „ n/3-sek. „	146	124	118	117	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$
4	1,65 „ n/3-prim. „ 0,35 „ n/3-sek. „	146	126	123	117	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$
5	1,0 „ n/1-Essigsäure 1,0 „ n/1-Natriumacetat	146	131	129	130	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$

Die offenbare Ähnlichkeit der Frauenmilchlipase mit der des Pankreas in ihrer Beeinflussung durch die [H˙] tritt ohne weiteres zutage.

Wenn also auch bisher kein stringenter Beweis geliefert ist, so sprechen doch diese orientierenden Versuche über den Einfluß der [H˙] auf den Fermentablauf dafür, daß die Lipase des Blutserums und der Frauenmilch in elektrochemischem Sinne wenn nicht identisch, so doch nahe verwandt ist mit der des Pankreas, und daß diesen dreien die Magenlipase als anderer Typ gegenüberzustellen ist.

Zusammenfassung.

Mit der bereits beschriebenen stalagmometrischen Methode sind als Ergänzung früherer Mitteilungen an den fettspaltenden Fermenten des Duodenal- und Magensaftes vom Säugling sowie an dem der Frauenmilch Untersuchungen über die Abhängigkeit der Lipolyse von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung angestellt worden. Sie haben zu folgenden Ergebnissen geführt:

1. Die Lipase des Duodenalsaftes vom Säugling zeigt das Optimum ihrer Wirkung bei einer [H˙] von $3{,}2 \cdot 19^{-9}$ oder $p_H = 8{,}5$.

2. In einer größeren Versuchsreihe mit dem gleichen Ferment ist ferner der bei jeder [H˙] vorhandene relative Fermentgehalt berechnet und grapisch als Funktion vom Wasserstoffionenexponenten dargestellt worden. Dabei hat sich eine Kurve ergeben, die erstens mit der Dissoziationskurve einer schwachen Säure übereinstimmt und zweitens der Größenordnung nach fast identisch ist mit der auf die gleiche Weise früher für das Trypsin experimentell festgestellten Kurve. Es ist deshalb durch Vergleich mit dem Trypsin der Wahrscheinlichkeitsschluß gezogen worden, daß die Lipase des Pankreas ein amphoterer Elektrolyt mit der Säuredissoziationskonstante $K_a = 1{,}0 \cdot 10^{-7}$ ist. Die lipolytische Wirksamkeit ist demgemäß an die Fermentanionen gebunden und geht ihrer Menge genau proportional.

3. Die Lipase des Magensaftes zeigt ein breites Optimum; es liegt bei einer [H˙] von ungefähr 10^{-5} bis 10^{-4}.

4. Die auf die gleiche Weise wie bei der Pankreaslipase bestimmte Kurve zeigt eine auffallende Übereinstimmung mit der früher für das Invertin gefundenen und wird als Säuredissoziationsrestkurve eines schwachen Ampholyten mit der Konstante $K_a = 4{,}5 \cdot 10^{-7}$ gedeutet. In diesem Falle ist das

wirksame Prinzip der Magenlipase an den Dissoziationsrest gebunden, und das Optimum entspricht dem isoelektrischen Punkt des Ampholyten, dessen Basendissoziationskonstante auf ungefähr 10^{-12} geschätzt wird.

5. Die festgestellte Divergenz zwischen der Pankreas- und der Magenlipase wird als Beweis für die Existenz zweier verschiedener lipolytischer Fermente angesehen und darauf eine Methode begründet zur Entscheidung, ob im einzelnen Falle Magen- oder Pankreaslipase resp. beide zugleich anwesend sind.

6. Auf Grund von Mageninhaltsuntersuchungen am Säugling nach gewöhnlichen Milchmischungen als Probenahrung wird die Befürchtung, daß häufig ein Zurückfließen vom Pankreassaft in den Magen stattfindet, als unbegründet zurückgewiesen.

7. Orientierende Versuche über die Lipase der Frauenmilch bezüglich ihrer Abhängigkeit von der $[H^{\cdot}]$ zeigen, daß dieses Ferment darin mit der Pankreaslipase übereinstimmt.

Das Verhalten des Blutzuckers bei Gesunden und Kranken.

VII. Mitteilung.

Der Blutzucker bei Diabetes mellitus.

Von

Fr. Rolly und Fr. Oppermann.

(Aus der Medizinischen Klinik zu Leipzig.)

(Eingegangen am 4. Februar 1913.)

Eine Ausscheidung von Zucker im Urin kann entweder dadurch erfolgen, daß die Nieren für Zucker abnorm durchlässig sind, oder aber dadurch, daß im Blute eine größere Menge von Zucker als normalerweise vorhanden ist. Im allgemeinen nimmt man seit den Untersuchungen Claude Bernards an, daß eine Hyperglykämie Ursache der Zuckerausscheidung bei dem Diabetes mellitus ist. Andererseits sind jedoch auch Fälle von Diabetes mellitus bekannt geworden, bei denen keine Hyperglykämie im Blute bestanden haben soll. v. Noorden[1]) jedoch kommt bei einer kritischen Besprechung dieser Fälle zu dem Schluß, daß die Existenz eines renalen Diabetes als einer selbständigen Krankheit nicht bewiesen ist. Er meint allerdings, daß im Beginn der diabetischen Stoffwechselstörung die Glucosurie ohne wesentliche Hyperglykämie die Regel ist. Fälle, wo eine Hyperglykämie bei Diabetes nicht bestanden, führt jedoch v. Noorden nicht an.

Die von uns vorgenommenen Blut- und Harnzuckeruntersuchungen bei verschiedenen Zuckerkranken sind in der Tabelle I verzeichnet.

---

[1]) Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von C. v. Noorden 2, 6, 1907.

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Diagnose	Name, Geschlecht, Alter	Traubenzuckergehalt im Harn %	Traubenzuckergehalt im Ges.-Blut %	Traubenzuckergehalt im Plasma %	Harnprobe auf Aceton	Harnprobe auf Acet.-Essigs.	Plasmagehalt des Blutes %	Temp. °C	Puls	Respir.	Bemerkungen
1	Diabetes mell. levis	J., ♀ 61 Jahre	0,5	0,215	0,247	schw. +	—		36,2	76	20	Blutentnahme nach 12stündigem Fasten nach Diabeteskost. Nach einigen Woch. Diätbehandlung nur noch ab und zu Spuren Harnzucker. — Krankheitsbeginn vor zirka 1¾ Jahren.
2	Diabetes mell. gravis	K., ♂ 22 Jahre	2,0	0,221	0,311	+	—	55,4	36,3	80	20	Tags vorher Hafermehlkost; Patient hat nach Eiweiß-Fettkost noch 1,5% Zucker im Urin; Tags vor der Entnahme noch 3,6%. Tags darauf bei Diabeteskost 1,5%.
3	do.	do.	1,0	0,184	0,210	+	—	60,3	36	80	20	12 Tage später, während dieser Zeit Diätbehandlung.
4	do.	do.	2,0	0,219	0,228	+	—		36,2	84	20	1 Tag später, was Pat. am Abend vorher gegessen, ist nicht sicher.
5	do.	R., ♂ 39 Jahre	3,8	0,344		+ +	+ +		36	60	17	Seit 1 Woche in Krankenhausbehandlung. Entnommen 13 Std. nach dem Abendessen. Tags zuvor 0,8% Harnzucker.
6	do.	do.	2,0	0,271	0,290	+	+		36	62	16	Derselbe ca. 3 Monate später. Nach Diätbehandlung. Tags zuvor 2,6% und darauf 2,0% Zucker im Urin.
7	do.	F., ♂ 26 Jahre	7,0	0,319		+ +	+ +		n.	n.	n.	Sehr schwerer Fall.
8	Diabetes mell. und Nephritis	Str., ♀ 50 Jahre	3,5	0,287		—	—		37,5	96	20	Durch akute Nephritis kompliziert. Nach 8 Tagen Exitus mit urämisch. Erscheinungen. Im Harn 1‰ Eiweiß.
9	Diabetes mell. gravis	B., ♀ 25 Jahre	1,7		0,375	+	+		n.	n.	n.	In diesem Falle bleibt die Aceton- und Acetessigsäure-Ausscheidung immer auch kurz vor dem Koma gleichmäßig. Früher Lues cerebri, davon linksseitige Parese.
10	do.	do.	2,3	0,338	0,406	+	+		36,3	100	20	6 Monate später entnommen. Verhalten d. Harnzuckers: 3 Tage vorher 0,7%, 2 „ „ 1,9%, 1 Tag „ 1,6%, 1 Tag darauf 1,3%, 2 Tage „ 0,8%

Tabelle I (Fortsetzung).

Lfd. Nr.	Diagnose	Name, Geschlecht, Alter	Traubenzuckergehalt im			Harnprobe auf		Plasmagehalt des Blutes	Temp. °C	Puls	Respir.	Bemerkungen
			Harn %	Ges.-Blut %	Plasma %	Aceton	Acet-Essigs.	%				
11	Diabetes mell. gravis	B., ♀ 25 Jahre	0,5	0,418	0,504	+	+		36,6	92	20	Pat. hat inzwischen abgenommen und keinen rechten Appetit. Riecht stark nach Aceton. Blut 10 Tage später entnommen als Nr. 10. Verhalten d. Harnzuckers: 5 Tage vorher 1,9 %, 4 „ „ 1,2 %, 3 „ „ 0,8 %, 2 „ „ 0,4 %, 1 Tag „ 1,0 %

Bei allen in der Tabelle I angeführten Zuckerkranken ließ sich eine zum Teil beträchtliche, zum Teil weniger große Hyperglykämie nachweisen. Außerdem fand sich zur Zeit der Blutuntersuchung bei allen Patienten Zucker im Urin. Ein strenger Parallelismus zwischen der Höhe der Zuckerausscheidung und dem Grade der Hyperglykämie besteht nicht. Und wenn sich auch bei den meisten, in der Tabelle angeführten Patienten eine um so größere Zuckerausscheidung im Urin fand, je höher ihr Blutzucker war, so zeigen doch andererseits die Untersuchungen 10 und 11, daß bei derselben Patientin einmal eine große Zuckerausscheidung bei einer relativ geringeren Hyperglykämie, ein anderes Mal eine geringe Zuckerausscheidung bei einer hochgradigen Hyperglykämie bestehen kann. Auch dürfte es wohl unmöglich sein, aus dem Grade der in der Tabelle verzeichneten Hyperglykämien zu entscheiden, ob ein Diabetes mellitus der leichten oder schweren Form angehört.

Im Coma diabeticum ändern sich diese Verhältnisse. Eine Übersicht über den Grad der Hyperglykämie im Vergleich zu dem der Glucosurie ergibt die Tabelle II.

Wie andere Forscher schon gefunden haben (Literatur bei v. Noorden, l. c.), steigt der Blutzuckergehalt im Coma diabeticum mitunter auf ganz enorme Werte, während der Harnzucker zu gleicher Zeit nur wenig in die Höhe geht oder sogar vielfach sinkt. Dieses Mißverhältnis zwischen Blutzuckergehalt und Harnzuckermenge kann sogar wie bei Nr. 12, 15

Tabelle II.

Lfd. Nr.	Diagnose	Name, Geschlecht, Alter	Traubenzuckergehalt im Harn %	Traubenzuckergehalt im Ges.-Blut %	Traubenzuckergehalt im Plasma %	Harnprobe auf Aceton	Harnprobe auf Acet-Essigs.	Plasmagehalt des Blutes %	Temp. °C	Puls	Respir.	Bemerkungen
12	Coma diabet.	B., ♀ 25 Jahre	0,5		**1,028**	+	+		36,4	↑ 68 abends	↑ 16 vorher	Am Abend vorher ein Hering und größere Mengen Butter und Fett gegessen. 1 Stunde nach Blutentnahme †. Lumbalpunktat.: **0,59** % Zucker.
13	do.	Kn., ♂ 58 Jahre	+	0,786	5,833	+	+		38,2	112	28	Im Harn Albumen + Sanguis + Sektion ergibt auch Cystitis und Pyelonephritis.
14	do.	G., ♀ 52 Jahre	+ + +	0,890		+ + +	+		36,3	↑ 112	↑ 28	Lumbalpunktat.: 0,720 % Zucker. Sektion: Ergibt auch Cystitis, Pyelitis. 3 Std. nach Entnahme †.
15	do.	R., ♀ 56 Jahre	0,6	0,603		+ +	?		36	108	28	Typisch. † 5 Stunden nach der Entnahme.
16	do.	R., ♀ 42 Jahre	Spur Zucker		0,725	+ + +	+		36,3	106	26	2 Tage vorher 2,8 % Zucker im Harn. 10 Std. nach Entnahme †. (Sektion: Tub. pulm. progr.). Lumbalpunktat.: 0,535 % Zucker.
17	do.	P., ♀ 19 Jahre	3 Eiw. = $1/2$ ‰	0,742	0,896	+ + +	+ +	66,6	36	76	24	† 8 Stunden nach der Entnahme. Am Tag vorher abends unwohl, Erbrechen. Am nächsten Morgen bewußtlos. Im Urin $1/2$ ‰ Eiweiß.
18	do.	Kr., ♂ 52 Jahre	1,9	0,462	0,587	+ + +	+ + +	53,5	36	100	32	Seit 4 Jahren schwerer Diabetes. Am Tage vorher unwohl, benommen, seit dem Morgen desselben Tages zunehmend bewußtlos. 1 Uhr: **erste** Blutentnahme, 5 Uhr: **zweite** Blutentnahme, 6 Uhr: **Lumbalpunktation.** Zwischen erster u. zweiter Blutentnahme 300 ccm Sodalösung in 5 %iger Lösung intravenös neben Na. bicarb. per os; Lumbalpunktat.: 0,425 % Zucker.
19	do.	do. 4 Std. spät. (14 Std. vor dem †)	1,9 Sp. Eiw.	0,559	0,646	+ + +	+ + +	53,5	35,9	92	32	

Tabelle II (Fortsetzung).

Lfd. Nr.	Diagnose	Name, Geschlecht, Alter	Traubenzuckergehalt im			Harnprobe auf		Plasmagehalt des Blutes	Temp. °C	Puls	Respir.	Bemerkungen
			Harn %	Ges.-Blut %	Plasma %	Aceton	Acet-Essigs.	%				
20	Coma diabet.	H., ♂ 18 Jahre	6,5	0,449	0,591	+ + +	+ +		34,9	120		Seit einigen Monaten matt, seit einig. Wochen viel Durst, viel Urin. Seit 2 Tagen auffallend tiefe Atmung, seit Tag vorher unklar. Morgens 10 Uhr: Na_2CO_3 und $NaKCO_2$ intravenös und rektal. Um 1 Uhr: Blutentnahme und Lumbalpunktion; n. 14 Stunden †. **Lumbalpunktat.: 0,447%** Zucker.

und 16 derartig werden, daß das Blutplasma einen größeren Prozentgehalt an Zucker aufweist als der Harn.

Bei allen untersuchten Fällen fand sich im Blutplasma eine größere Menge Zucker als im Gesamtblut; dies läßt wohl darauf schließen, daß sich hier im allgemeinen die Blutkörperchen langsamer mit Zucker anreichern als das Blutplasma. Ebenso ist der Zuckergehalt der bei den Patienten entnommenen Lumbalflüssigkeit stets geringer als der des Blutplasmas. Es scheint demnach bei dem Coma diabeticum das Blutplasma im Vergleich zu anderen Körperflüssigkeiten am zuckerreichsten zu sein, und der Zucker erst allmählich vom Blutplasma aus auf die übrigen Körperflüssigkeiten überzugehen.

Das zugleich mit dem Auftreten von komatösen Erscheinungen erfolgende plötzliche Emporschnellen des Zuckergehaltes des Blutes und noch vieles andere weist darauf hin, daß wir es hier mit einer Insuffizienz der Niere zu tun haben, welch letztere den überschüssigen Blutzucker nicht mehr abführen kann und deswegen trotz des hohen Blutzuckergehaltes in der Regel nicht mehr Zucker ausscheidet als vorher. Es liegt deswegen nahe, daran zu denken, ob nicht beim Coma diabeticum durch eine primäre Niereninsuffizienz erst sekundär eine stärkere Retention der bei dem Diabetiker stets vorhandenen Fettsäuren hervorgerufen wird.

Alle bis jetzt mitgeteilten Fälle von Diabetes mellit. wiesen eine deutliche Hyperglykämie auf. Um so mehr waren wir er-

staunt, als wir bei einem leichten Diabetiker völlig normale Blutzuckerwerte fanden, und zwar war der Blutzuckergehalt sowohl bei strenger, als auch bei der gewöhnlichen Krankenhauskost, wobei am Tage 575 g Brot, Mehl, Reissuppen usw. verabreicht wurden, niemals abnorm hoch. Über den Gehalt des Gesamtblutes an Plasma und Zucker im nüchternen Zustande nach Dextrosezufuhr gibt der folgende Versuch Aufschluß.

Patient R., ♂, 44 Jahre alt, groß, kräftig gebaut, 79 kg schwer. Er war früher gesund, seit ca. 1/4 Jahr hat er viel Durst, Heißhunger, Schwäche in den Füßen. Die objektive Untersuchung ergibt außer der Zuckeranwesenheit im Urin keinen pathologischen Befund.

Versuch.

(Patient hat seit 12 Stunden außer Wasser nichts zu sich genommen.)

$8^h 50'$ Nüchternblutentnahme:

Gesamtblutzucker . . . . 0,064 %
Plasmazucker . . . . 0,091 „
Plasmavolumen . . . . 70,8 „

$9^h 10'$ 100 g Dextrose in 250 ccm leichtem, schwarzem Kaffee, außerdem 10^h 250 ccm Wasser.

$11^h 10'$ Blutentnahme:

Gesamtblutzucker . . . . 0,109 %
Plasmazucker . . . . 0,146 „
Plasmavolumen . . . . 71,8 „

$1^h 15'$ Blutentnahme:

Gesamtblutzucker . . . . 0,083 %
Plasmazucker . . . . 0,101 „
Plasmavolumen . . . . 63,7 „

$2^h 55'$ Blutentnahme:

Gesamtblutzucker . . . . 0,064 %
Plasmazucker . . . . 0,069 „
Plasmavolumen . . . . 64,0 „

Der Harn, der stets von Blutentnahme zu Blutentnahme in mehrere Gefäße entleert und die Menge notiert wird, zeigt, polarimetrisch gemessen, folgenden Zuckergehalt:

Es werden entleert in der Zeit	Urinmenge ccm	Urinzucker %	Urinzucker g
Vor 9^h	150	Spur	—
Von 9^h bis 11^h	200	1,3	2,6
Von 11^h bis $1^h 15'$	80	4,4	3,5
Von $1^h 15'$ bis $2^h 55'$	100	2,3	2,3

Innerhalb 6 Stunden wurden also 8,4 g Zucker ausgeschieden. Die Aceton- und Acetessigsäureprobe war bei allen Untersuchungen negativ.

Es fanden sich also bei diesem Falle von Diabetes mellit. im nüchternen Zustande vollständig normale Blutzuckerwerte, auch war die nach Dextrosezufuhr eintretende Hyperglykämie weder in ihrer Höhe noch in ihrer Form von der beim Gesunden erheblich verschieden.

Patient ward nun 8 Tage auf Fleisch-Fettdiät gesetzt und schied dabei täglich 0,4 bis 0,9 % Zucker aus. Er verlor seinen Zucker im Urin also nicht völlig, wie wir dies bei leichten Diabetikern in der Regel bei einer kohlenhydratfreien Nahrung wahrnehmen. Nach Verlauf von 8 Tagen wurde dem Patienten Blut im nüchternen Zustande wieder entnommen; die Untersuchung desselben ergab:

Gesamtblutzucker	0,065 %
Plasmazucker	0,105 "
Plasmavolumen	62,0 "

Trotz der strengen Diät war der Blutzucker in dieser Zeit demnach ein wenig in die Höhe gegangen; die Zahlen für den Blutzucker bewegen sich aber immer noch innerhalb der physiologischen Grenzen.

Nun ward dem Patienten die gewöhnliche Krankenhauskost (Fleisch, Fett, Milch, Reis + 575 g Brot) 3 Tage lang gegeben; dabei ging die Zuckerausscheidung bis 3 % in die Höhe. Danach erhielt er 2 Tage lang eine Fleisch-Fettdiät mit einer Zulage von 500 g Brot, wobei er durch den Urin am 1. Tage 2,0 % (= 36 g Zucker) und am 2. Tage 2,1 % (= 32,5 g Zucker) ausschied.

Die Blutuntersuchung des nach diesen beiden Tagen im nüchternen Zustande entnommenen Blutes ergab:

Gesamtblutzucker	0,069 %
Plasmazucker	0,110 "
Plasmavolumen	62,5 "

Die Blutzuckerwerte sind demnach auch nach der 5tägigen reichlichen Kohlenhydratkost normal geblieben und weichen kaum von den früheren ab.

Es fragt sich nun, ob es sich bei dem vorliegenden Falle um die renale Form des Diabetes mellit. handelt. Bekanntlich hat v. Noorden (l. c.) zur Diagnose des renalen Diabetes verlangt, daß 1. die Glucosurie von der Größe der Kohlenhydrat-

zufuhr unabhängig und daß 2. der Blutzucker gegenüber dem Normalen nicht erhöht sein darf. Bei unserem Falle war aber die Glucosurie von der Größe der Kohlenhydratzufuhr nicht unabhängig, da sie doch dabei bedeutend in die Höhe gegangen war. Dagegen erfüllte unser Patient die zweite Bedingung v. Noordens: die Höhe des Blutzuckers bewegte sich stets innerhalb der Norm.

Wir müssen uns demnach vorstellen, daß die Niere des betreffenden Patienten außerordentlich fein arbeitet und den Zucker, sowie dieser im Blute einen gewissen Prozentsatz erreicht, sofort auszuscheiden beginnt. Auf diese Weise kann es nicht zu einer stärkeren Hyperglykämie kommen.

Alles in allem würden wir demnach den vorliegenden Fall für eine leichte Erkrankung von Diabetes mellit. halten, bei dem die Niere gegenüber Zucker überempfindlich ist. Betonen möchten wir dabei noch, daß klinisch derselbe sich in nichts von den Symptomen eines gewöhnlichen Diabetes mellit. unterschied, da die Erkrankung mit Durst, Abmagerung, Heißhunger usw. einsetzte. Wir halten es nicht für ausgeschlossen, daß bei längerem Bestehen der Krankheit der Blutzucker allmählich ansteigen und die Niere weniger empfindlich werden wird. Ob aber derartige Befunde im Beginne der Zuckerkrankheit häufiger angetroffen werden, wie v. Noorden meint, halten wir für sehr unwahrscheinlich, glauben vielmehr, daß weit häufiger der Glucosurie eine Hyperglykämie zeitlich voraufgehen wird.

Daß die Niere bei verschiedenen Diabetesfällen und bei ein und demselben Falle und zu verschiedenen Zeiten mehr oder weniger zuckerdicht sein kann, haben wir oben gesehen. Sicherlich wird auch durch Nahrungsmittel die Zuckerdichtigkeit der Niere beeinflußt, wie wir einmal z. B. bei einer Hafermehlkur deutlich feststellen konnten. Bei dieser Beobachtung schied der Patient an den beiden Hafermehltagen keinen Zucker aus. Dagegen setzte nach diesen Tagen eine starke Diurese und Glucosurie ein, trotzdem dabei mit der Nahrung keine Kohlenhydrate gereicht worden waren. Es müssen demnach bei diesem Patienten während der Hafermehltage Zucker und Flüssigkeit im Körper retiniert worden sein, die nach Aussetzen des Hafermehles ausgeschieden wurden.

Zum Vergleich des Verhaltens von Blut- und Harnzucker nach Dextrosezufuhr möchten wir die Untersuchungen bei einem typischen Diabetiker hier anführen.

Patient Re., ♂, 32 Jahre alt, scheidet bei Fleisch-Fettdiät nur Spuren von Zucker, kein Aceton und keine Acetessigsäure aus. Körpergewicht 59 kg. Beginn der Erkrankung ist nicht genau anzugeben.

$8^h 20'$ Nüchternblutentnahme:

	Gesamtblutzucker	0,163 %
	Plasmazucker	0,187 „
	Plasmavolumen	64,6 „
demnach		
	Blutkörperchenzucker	0,155 „
	und $\frac{\text{Plasmazucker}}{\text{Blutkörperchenzucker}}$	1,2 „

9^h Einnahme von 100 g Dextrose in 250 ccm sehr leichtem, schwarzem Kaffee.

11^h Blutentnahme:

	Gesamtblutzucker	0,322 %
	Plasmazucker	0,368 „
	Plasmavolumen	64,4 „
demnach		
	Blutkörperchenzucker	0,238 „
	und $\frac{\text{Plasmazucker}}{\text{Blutkörperchenzucker}}$	1,5 „

Zwischen 11^h und 1^h trinkt Patient 250 ccm Wasser.

1^h Blutentnahme:

	Gesamtblutzucker	0,177 %
	Plasmazucker	0,198 „
	Plasmavolumen	70,8 „
demnach		
	Blutkörperchenzucker	0,113 „
	und $\frac{\text{Plasmazucker}}{\text{Blutkörperchenzucker}}$	1,6 „

Um	11^h	schied Patient	220 ccm	Urin aus m. e. Zuckergehalt v.	1,0 %	= 2,20 g
„	12^h	„ „	350 „	„ „ „ „ „	„ 2,1 „	= 7,35 „
„	1^h	„ „	450 „	„ „ „ „ „	„ 1,2 „	= 5,40 „
„	$2^1/_2{}^h$	„ „	500 „	„ „ „ „ „	„ 0,0 „	= 0,00 „

Die im ganzen mit dem Urin ausgeschiedene Zuckermenge beträgt mithin 14,95 g, und da der um 9^h bei Beginn des Versuches entleerte Urin zuckerfrei war, so ist anzunehmen, daß von den 100 g Dextrose 85 g im Körper zurückbehalten worden sind. Patient hat auf die Zufuhr von 100 g Dextrose mit einer Blutzuckersteigerung von ca. 100 % reagiert.

Auch ist aus den angeführten Zahlen ersichtlich, daß bei der durch Dextrosezufuhr entstandenen Hyperglykämie das Plasma stets reicher an Zucker ist als die Blutkörperchen, worauf schon Michaelis und Rona[1]) hingewiesen haben.

In früheren Untersuchungen[2]) war es uns aufgefallen, daß bei dem Diabetes mellit. der schweren Form eine Fleischzugabe zu der Nahrung (Mehl und Fett) die Glucosurie bedeutend in die Höhe trieb, während eine gleiche oder noch größere Menge von Roborat oder Aleuronat, unter den gleichen Bedingungen gegeben, die Glucosurie fast ganz unbeeinflußt ließ. Da nun außerdem bei unseren damaligen Versuchen die respiratorischen Quotienten sich sowohl nach Fleisch- als nach Pflanzeneiweiß in der gleichen Höhe bewegten, so schlossen wir daraus, daß entweder durch die Aufnahme des Fleischeiweißes in den Körper ein Teil des dort schon vorhandenen Glykogens mobilisiert und dadurch eine Hyperglykämie und Glucosurie herbeigeführt, oder aber daß, weil neben dem Fleisch Kohlenhydrate (Mehlsuppen) gereicht wurden, die Ablagerung der mit der Nahrung zugeführten Kohlenhydrate als Glykogen im Körper infolge der Fleischgabe hintan gehalten wird.

Es war deshalb interessant einmal festzustellen, ob denn auch nach Zufuhr von Pflanzen- und Fleischeiweiß bei einem schweren Diabetiker im Blute verschiedene Mengen von Zucker nachzuweisen waren.

Patient E., ♂, 31 Jahre alt. Diagnose: Diabetes mellit. gravis.

Bei seiner Einlieferung in das Krankenhaus hatte Patient 7% Zucker. Bei Fett-Fleisch-Gemüsediät schwankte die Zuckerausscheidung zwischen 0,6 und 1%, während zu gleicher Zeit reichlich Aceton und Acetessigsäure im Urin auftraten.

Das in nüchternem Zustande dem Patienten früh $9^h 15'$ entnommene Blut ergab:

	Gesamtblutzucker	0,161%
	Plasmazucker	0,219 "
	Plasmavolumen	63,9 "
demnach		
	Blutkörperchenzucker	0,058 "

$9^h 30'$ bis $9^h 35'$ nimmt Patient 500 g leicht gewürztes, wenig angebratenes geschabtes Fleisch zu sich.

[1]) Diese Zeitschr. 18, 375.

[2]) Rolly, Zur Theorie und Therapie des Diabetes mellitus. Arch. f. klin. Med. 105, 494.

Das 11h 30′ dem Patienten entnommene Blut ergibt folgende Zuckerwerte:

Gesamtblutzucker . . . . 0,173 %
Plasmazucker . . . . 0,233 „
Plasmavolumen . . . . 64,8 „

demnach

Blutkörperchenzucker . . . . . . 0,065 „

In dem 1h 30′ entnommenen Blut findet sich:

Gesamtblutzucker . . . . 0,181 %
Plasmazucker . . . . 0,219 „
Plasmavolumen . . . . 67,2 „

demnach

Blutkörperchenzucker . . . . . . 0,104 „

Der Versuch zeigt, daß in den ersten 4 Stunden nach der Fleischzufuhr bei dem schwer Zuckerkranken eine — wenn auch geringe, so doch deutliche — Zuckeranreicherung im Blute auftrat, an der in den ersten 2 Stunden sich das Blutplasma weit mehr als die Blutkörperchen beteiligte. In dem 4 Stunden nach der Fleischmahlzeit entnommenen Blute war der Plasmazucker wieder etwas gesunken, dagegen der Blutkörperchenzucker derartig in die Höhe gegangen, daß die Werte für den Gesamtblutzucker noch größer als die in dem nach 2 Stunden entnommenen Blute waren.

Der Urin wurde stündlich in verschiedene Gläser gelassen. Der Nachtharn enthielt 0,5 % Zucker. Es wurden entleert:

	Menge ccm	Zuckergehalt %	Zuckergehalt g	Aceton	Acetessigsäure
Von 9h 35′ bis 10h 30′	170	0,70	1,20	+	+
„ 10h 30′ „ 11h 30′	225	1,10	2,50	+	+
„ 11h 30′ „ 12h 30′	340	1,25	4,25	+	+
„ 12h 30′ „ 1h 30′	190	1,45	1,80	+	+

Die Zuckerausscheidung zeigte also besonders in der 3. Stunde nach der Fleischzufuhr eine deutliche Steigerung.

Demselben Patienten wird nun 6 Tage später Aleuronat nüchtern gegeben und vor- und nachher das Blut auf seinen Zuckergehalt untersucht. In der Zwischenzeit hatte Patient bei Fleisch-Fett-Gemüsediät an einigen Tagen eine etwas höhere Zuckerausscheidung (bis 1,6 %). Auch ist zu bemerken, daß die doppelte Menge Pflanzeneiweiß in Form von Aleuronat (200 g anstatt 100 g) versehentlich gegeben wurde. Der früher im Fleisch gereichten Eiweißmenge wären nämlich 100 g Aleuronat äquivalent gewesen.

$9^h\ 35'$ Nüchternblutentnahme:

	Gesamtblutzucker	0,208 °/₀
	Plasmazucker	0,245 „
	Plasmavolumen	67,5 „
demnach		
	Blutkörperchenzucker	0,102 „

$10^h\ 20'$ bis $10^h\ 40'$ werden 200 g Aleuronatmehl, in 250 ccm schwarzen, sehr leichten Tee verrührt, genossen.

$12^h\ 40'$ Blutentnahme:

	Gesamtblutzucker	0,243 °/₀
	Plasmazucker	0,313 „
	Plasmavolumen	65,8 „
demnach		
	Blutkörperchenzucker	0,108 „

$2^h\ 40'$ Blutentnahme:

	Gesamtblutzucker	0,259 °/₀
	Plasmazucker	0,294 „
	Plasmavolumen	71,7 „
demnach		
	Blutkörperchenzucker	0,173 „

Die durch Aleuronat hervorgerufene Hyperglykämie tritt langsamer als die durch Fleischeiweiß bedingte ein. Außerdem besteht sie länger resp. fällt nicht so schnell ab wie die letztere, im übrigen aber sind beide sehr ähnlich und unterscheiden sich im Verlauf nicht deutlich voneinander.

Der vor $10^h\ 40'$ gelassene Harn enthält 0,6 °/₀ Zucker, außerdem Aceton und Essigsäure. Darauf werden entleert:

	Menge	Zuckergehalt		Aceton	Acet-essigsäure
	ccm	°/₀	g		
Von $10^h\ 40'$ bis $11^h\ 40'$	180	0,2	0,36	+	+
„ $11^h\ 40'$ „ $12^h\ 40'$	345	1,3	4,50	+	+
„ $12^h\ 40'$ „ $1^h\ 40'$	240	1,7	4,10	+	+
„ $1^h\ 40'$ „ $2^h\ 40'$	290	1,8	5,20	+	+

Aus der Tabelle folgt, daß der in den einzelnen Stunden ausgeschiedene Zucker sich ähnlich wie der Blutzucker verhält: Die Steigerung der Zuckerausscheidung im Urin geht nach der Aleuronatzufuhr langsamer vor sich als nach Fleischnahrung und scheint alsdann auch wieder langsamer herunterzugehen. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß das langsame Ansteigen der Hyperglykämie und Glucosurie nach Aleuronat mit der langsameren Verdauung und Resorption desselben im Vergleich zu der des Fleisches zusammenhängt.

Beide Versuche zeigen also, daß ein Unterschied in der Wirkung nach Genuß von Fleisch- und Pflanzeneiweiß auf die Glucosurie und Glykämie des schweren Diabetikers nicht vorhanden ist. Demnach kann das Fleischeiweiß allein eine im Verhältnis zum Pflanzeneiweiß stärkere Mobilisation von im Körper vorhandenem Glykogen nicht hervorrufen.

Da aber andere und auch wir in früheren Versuchen (l. c.) mit Sicherheit nachweisen konnten, daß bei dem schweren Diabetiker bei gleichzeitiger Darreichung von Fleischeiweiß + Mehlsuppen die Glucosurie bedeutend höher ansteigt, als wenn dieselbe Menge Mehl + der äquivalenten Menge Pflanzeneiweiß gereicht wird, so bleibt nur noch der Schluß übrig, daß das Fleischeiweiß die Verdauung und die Verarbeitung resp. die Fixation des resorbierten Mehles als Glykogen bei dem schweren Diabetiker ungünstig beeinflußt. Auch wird vielleicht durch die im Fleisch enthaltenen Extraktivstoffe außerdem noch eine Wirkung auf die Nieren ausgeübt, und zwar derart, daß die Nieren für Zucker durchlässiger werden und alsdann der noch nicht als Glykogen fixierte, aus dem Mehle entstandene Zucker sofort durch die Nieren ausgeschieden wird. Auf diese Weise kommt es beim schweren Diabetiker nach Genuß von Mehl und Fleischeiweiß zu keiner stärkeren Hyperglykämie, als wie sie nach denselben Mengen von Mehl und Pflanzeneiweiß beobachtet wird, aber die Glucosurie wird im ersteren Falle größer als im zweiten ausfallen.

Interessant war es nun weiterhin zu untersuchen, ob auch bei normalen Menschen oder leichten Diabetikern nach Zufuhr von Fleischeiweiß eine Steigerung des Blutzuckers eintritt. Wir lassen hier 3 Versuche bei Normalen folgen.

1. Patient N., ♀, 22 Jahre alt. Diagnose: Leichte Mitralinsuffizienz, sonst ganz gesund. Seit 14 Stunden nüchtern.

$9^h 30'$ Blutentnahme:

Gesamtblutzucker	0,080 %
Plasmazucker	0,097 „
Plasmavolumen	68,6 „

Von $9^h 45'$ bis 10^h werden 195 g rohes, z. T. leicht angebratenes Fleisch verzehrt.

$11^h 20'$ Blutentnahme:

Gesamtblutzucker	0,086 %
Plasmazucker	0,096 „
Plasmavolumen	69,1 „

$12^h 40'$ nochmals Blutentnahme:

Gesamtblutzucker	0,077 %
Plasmazucker	0,094 „
Plasmavolumen	67,0 „

2. Patient W., ♂, 25 Jahre alt. Diagnose: Multiple Sklerose. Nüchtern seit über 12 Stunden.

8^h Blutentnahme:

Gesamtblutzucker	0,075 %.

$8^h 10'$ bis $8^h 30'$ Einnahme von 400 g rohem geschabtem Fleisch.

In dem um $10^h 55'$ entnommenen Blut ergab der Gesamtblutzucker 0,074 %, in dem um 1^h entnommenen Blut 0,0775 %.

Auch bei einem dritten Versuch, in dem wir einem hemiplegischen Arteriosklerotiker, der einen verhältnismäßig stark erhöhten Blutzuckergehalt, jedoch keine Glucosurie aufwies, Fleisch zuführten, hatten wir dasselbe Resultat.

3. Patient Pr., ♂, 56 Jahre alt. Diagnose: Arteriosklerose, Hemiparesis dextra mit Aphasie.

Bei Einhaltung derselben Versuchsbedingungen wie bei dem vorigen Versuch ergab die Untersuchung des Blutes für den Gesamtblutzucker folgende Werte:

Nüchternwert	0,138 %
2 Stunden nach dem Essen . . .	0,131 „
4 „ „ „ „ . . .	0,138 „

Aus den 3 vorliegenden Versuchen können wir mithin den Schluß ziehen, daß nach Fleischgenuß beim Nichtdiabetiker eine Erhöhung des Blutzuckergehaltes nicht eintritt. Ebenso verhält sich der leichte Diabetiker, wie wir in einem Versuche nachweisen konnten; von einer Wiedergabe sehen wir hier ab, da wir ihn schon in unserer I. Mitteilung[1]) aufgeführt haben.

In weiteren Versuchen wollten wir feststellen, ob Fleisch- und Pflanzenfresser sich nach Genuß von Fleisch- uud Pflanzeneiweiß verschieden bezüglich ihres Blutzuckergehaltes verhalten.

Von den an Hunden ausgeführten Versuchen seien hier zwei angeführt:

1. Hund, seit 14 Stunden ohne Fressen.

$8^h 45'$ Blutentnahme:

Gesamtblutzucker	0,089 %

$9^h 30'$ 400 g Rindfleisch.

12^h Blutentnahme:

Gesamtblutzucker	0,092 %

---

[1]) Diese Zeitschr. 48.

1ʰ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,093%

2. Hund ist seit 14 Stunden ohne Fressen.

10ʰ 30′ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,115%

10ʰ 45′ 80 g Aleuronat in Brotform.

1ʰ 15′ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,118%

2ʰ 15′ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,111%

3ʰ 20′ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,120%

Unter den Pflanzenfressern nahmen wir bei Kaninchen und bei einer Ziege die gleichen Untersuchungen vor. Die Blutzuckeruntersuchungen bei Kaninchen wollen wir hier weglassen, da diese Tiere, wie schon verschiedentlich erwähnt, öfter unregelmäßige und unmotivierte Blutzuckersteigerungen aufweisen. Ihnen sowie der Ziege konnten wir kein geschabtes Rindfleisch durch die Schlundsonde beibringen. Wir beschränkten uns deshalb darauf, diesen Tieren eine größere Menge Fleischextrakt anstatt des Fleisches zu geben.

Ziege, 16000 g schwer, gesund, 12 Stunden ohne Fressen.

9ʰ 45′ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,092%

10ʰ werden mittels der Schlundsonde dem Tiere 40 g Fleischextrakt = 24 g Fleischeiweiß zugeführt.

11ʰ 20′ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,0925%

1ʰ 10′ Blutentnahme:
Gesamtblutzucker 0,091%

Die Versuche an Tieren ergaben also weder bei Fleisch- noch bei Pflanzenfressern nach größeren Fleisch- oder Pflanzeneiweißgaben per os eine Steigerung des Blutzuckergehalts. Nur beim schweren Diabetiker erfolgt nach Eiweißgenuß eine Hyperglykämie und eine Erhöhung der Glucosurie. Die letztere ist jedoch bei gleichzeitiger Verabreichung von Fleisch und Mehl größer als bei einer solchen von gleichen Mengen Pflanzeneiweiß und Mehl.

Chemische und biochemische Untersuchungen über das Nervensystem unter normalen und pathologischen Bedingungen (Giacomo Pighini).

V. Mitteilung.

Biochemische Studien über die Gehirnschwellung.

a) Die akute Schwellung des Gehirns und die kolloidale Lehre vom Ödem.

Von

Pietro Barbieri und Domenico Carbone.[1])

(Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium des Psychiatrischen Instituts in Reggio Emilia.)

(Eingegangen am 4. Februar 1913.)

Hauptsächlich Reichardt[2]) kommt das Verdienst zu, daß er vor wenigen Jahren die Aufmerksamkeit der Forscher auf einen besonderen Zustand des Gehirns gelenkt hat, der meistens in den Fällen von plötzlichem Tod, die zuweilen im Verlaufe der Dementia praecox eintreten, anzutreffen ist. Dieser Zustand wurde von ihm als akute Hirnschwellung definiert. In ihm zeigt das Gehirn ein größeres Volumen und Gewicht, ohne daß darin — wie Reichardt versichert — diejenigen sowohl makro- als mikroskopischen Veränderungen konstatiert werden können, die gewöhnlich bei Vergrößerung der Organe wahrgenommen werden.

Die durch ihn zu Ehren gebrachte, rein physikalische Methode ist einfach: sie besteht im Wiegen des Gehirns und in der Bestimmung des

---

[1]) In der vorliegenden Arbeit stammen von Dr. Carbone nur die Experimente an den mit Morphium und CO vergifteten Kaninchen. Der ganze übrige experimentelle Teil ist ausschließlich von Dr. Barbieri geliefert, von dem auch die Abfassung der ganzen Arbeit besorgt wurde.

[2]) M. Reichardt, Über die Untersuchung d. gesund. u. kranken Gehirns mittels der Wage. Jena 1906. Monatsschr. f. Psych. u. Neurol. 24, 1910.

prozentualen Verhältnisses zwischen diesem Gewicht und der Kapazität der Hirnschale.

Er beobachtete, daß dieses Verhältnis in bestimmten Fällen sehr vermindert ist, so daß es von 10%, wie es ungefähr normaliter ist, zuweilen bis auf 0% sinken und auch negative Werte erreichen kann. Alsdann zeigt sich das Gehirn geschwollen und ist, um den Ausdruck Reichardts zu gebrauchen, fast zu groß geworden für die Schale, die es enthält.

Die klinische Bedeutung dieses charakteristischen Zustandes wird leicht ihrem Werte nach geschätzt werden, wenn man sich daran erinnert, daß er von Reichardt bei plötzlich gestorbenen Dementia praecox-Kranken, bei während des Anfalls gestorbenen Epileptikern, bei im epileptiformen Anfall gestorbenen Paralytikern und in Fällen von Pseudotumor angetroffen wurde. Apelt[1]) fand ihn dann auch bei Individuen, die an akuten Krankheiten anderer Organe litten und unter schweren Hirnsymptomen gestorben waren. In allen diesen Fällen nimmt Reichardt an, daß der Tod infolge einer durch die Schwellung verursachten akuten Hirnkompression eintritt. Er beruft sich auf geringere Grade von Schwellung, um andere Zufälle zu erklären, wie z. B. die hinzutretenden Störungen der Epilepsie, der Katatonie, der Paralyse: den Stupor, die Stauungspapille bei Katatonie usw.

Weil er in allen von ihm untersuchten Hirnen niemals die Anwesenheit von Exsudaten oder Entzündungsprozessen oder von einigen der mit den damals gebräuchlichen Methoden nachweisbaren anatomisch-pathologischen Veränderungen beobachten konnte, hielt er sich für berechtigt, die Vortrefflichkeit und Überlegenheit seiner neuen Untersuchungsmethode zu rühmen im Vergleich zum Mikroskop, das, wie sich gezeigt hatte, nicht imstande war, die anatomische Grundlage der vielen psychischen Krankheiten (abgesehen von der progressiven Paralyse) zu entdecken, und noch weniger uns die Ursache der plötzlichen Todesfälle zu erklären vermochte.

Wie bekannt, wurde diese gegen das Mikroskop gerichtete Herausforderung sofort von hervorragenden Histologen aufgenommen und in der erschöpfendsten Weise beantwortet. Perusini[2]) und Bonfiglio in Italien, Alzheimer[3]) und seine Schule in Deutschland wiesen leicht nach, wie unrichtig Reichardts Behauptungen waren. Gerade zu dieser Zeit hatte Alzheimer seine neuen Methoden der histologischen Technik am Nervensystem bekannt gemacht, und mittels Anwendung dieser Methoden gelang es ihm und seinem Schüler Rosenthal[4]), als sie Fälle

---

[1]) Apelt, Der Wert der Schädelkapazit. u. d. vergleichenden Hirngewichtsbestimmung. Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk. 35, 1908.

[2]) Perusini, L' anatomia patologica in Psichiatria. Rivista sperimentale di Freniatria. 35, 1909.

[3]) A. Alzheimer, Beiträge z. Kenntnis der pathol. Neuroglia usw. Nissl-Alzheimers hist. u. histopath. Arbeiten 3, 1911.

[4]) Rosenthal, Histol. Befunde beim sogen. Pseudotumor cerebri. Zeitschr. f. d. gesamte Neurol. u. Psychol. 7, 1911.

von Pseudotumor und die von Reichardt angeführten akuten Formen einer Untersuchung unterzogen, eine Reihe von konstanten, charakteristischen Veränderungen zur Evidenz nachzuweisen, die man mit den bis dahin verwendeten Methoden nicht hatte entdecken können.

Diese Veränderungen bestehen vor allem in einer reichen Erzeugung von amöboiden Gliazellen (namentlich um die Wand der Hirnventrikel herum) und in einer außerordentlichen Menge von Zellen mit fibrinoiden Körnchen und von Abbauprodukten.

In vollkommener Übereinstimmung mit Rosenthal und Alzheimer fand vor kurzem auch Montesano[1]) denselben Befund in einem Falle von plötzlichem Tode bei einem Dementia praecox-Kranken, wie auch Fankhauser[2]) in zwei ähnlichen Fällen. Ist damit bewiesen, daß jedes Mal, wenn eine Hirnschwellung vorliegt, dieser histopathologische Befund übereinstimmend ist? Die Frage ist sehr kompliziert und noch weit von ihrer Lösung entfernt.

Für uns jedoch ist sie im Hinblick auf die Ziele unserer Arbeit nicht von großer unmittelbarer Bedeutung, und wir wollen deshalb, indem wir uns in Anbetracht ihrer Wichtigkeit mit dem Hinweis auf sie begnügen, unsere Aufmerksamkeit lieber der physikalisch-chemischen Seite des Problems zuwenden und versuchen, ob es möglich ist, die Entstehung und das Wesen dieser Schwellung zu erforschen.

Reichardt[3]) betont in einer neuen Arbeit den Unterschied, den man zwischen Hirnödem und Hirnschwellung machen muß. Wir haben es mit einem Ödem zu tun, wenn eine Zunahme von Flüssigkeit infolge Zunahme der Lymphe oder einer ähnlichen aus dem Blute transsudierten Flüssigkeit vorhanden ist, mit entsprechender Gewichtszunahme. Unter Hirnschwellung müssen wir dagegen verstehen: Volumzunahme des Gehirns, von sehr verschiedener Ätiologie, bei der die Volumvergrößerung nach gegenwärtigem Stande der Kenntnisse nicht erklärt werden kann, durch Hypertrophie oder Hyperplasie oder entzündliche Neubildung, Schwellung durch Hyperämie oder Anwesenheit vermehrter freier Flüssigkeit und auch nicht (nach den bis jetzt gemachten Beobachtungen) durch histologische Befunde, die ohne weiteres die Volumzunahme des Gehirns erklären können (Reichardt).

Derartige Gehirne haben auch makroskopisch eine von den ödematösen ganz verschiedene Beschaffenheit: sie sind trocken, fest, klebrig.

Immerhin bleibt das wahre Wesen der Erscheinung noch immer dunkel. Reichardt glaubt, wenn er auch annimmt, daß bei einigen Schwellungen auch eine Vermehrung der festen Stoffe eintreten kann (dies würde vielleicht mit den angeführten histologischen Befunden im

---

[1]) G. Montesano, Sulla morte improvvisa nella demenza precoce. Riv. Ital. di Neuropat. Psich. ed Elettroter. 5, Settembre 1912.

[2]) Fankhauser, Zeitschr. f. d. gesamte Neurol. u. Psychol. Januar 1912.

[3]) M. Reichardt, Über Hirnschwellung. — Derselbe, Ref. 3, 1, 1911.

Einklang stehen), daß in einer großen Zahl von Fällen die Erscheinung durch eine gesteigerte Aufnahme von Wasser von seiten des lebenden Protoplasmas bedingt sei; das Wasser in der Hirnsubstanz soll auf besondere, noch nicht recht bekannte Weise gebunden sein. Wahrscheinlich verbergen sich bei der Erscheinung der Hirnschwellung Vorgänge und Hirnzustände, die hinsichtlich ihrer Lokalisation, Natur und Intensität verschieden sind. Aus diesem Grunde erschien es uns interessant, das Problem zu studieren und zu erforschen, durch welchen dieser Vorgänge eine erhöhte Wasserfixierung im inneren Gefüge des Hirngewebes eintreten könnte, und ob es möglich sei, sie experimentell bei Tieren hervorzurufen. Welcher Weg ist aber einzuschlagen, um dieses Ziel zu erreichen?

Eben die Vorstellung Reichardts bezüglich der wahrscheinlichsten Art des Wesens der Schwellung mußte uns von vornherein auf den richtigsten Weg führen, der einzuschlagen war, nämlich die Verwendung jener Mittel, die die neueren Theorien — von denen uns a priori die von M. Fischer vorzugsweise als für unseren Fall geeignet erschien — als die günstigsten für die Hervorrufung des Ödems annehmen ließen.

Nachdem wir vorausgeschickt haben, daß die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Experimente nur der erste Teil eines Studiums sind, das wir vervollständigen wollen und das in der Folge fortgesetzt werden soll, sagen wir von vornherein, daß alle hier erörterten Experimente eben auf der kolloidalen Lehre Fischers beruhen, auf der Lehre, die den sauren Stoffen hauptsächlich das Vermögen zuschreibt, die Affinität der verschiedenen tierischen Kolloide zum Wasser zu erhöhen.

Deshalb halten wir es nicht für überflüssig, in Kürze diese Lehre Fischers zu resümieren, die wegen der Neuheit der Auffassung eine gewisse Umkehrung der vorher dominierenden Vorstellungen von der Entstehung des Ödems veranlassen mußte.

Erst im Jahre 1910 veröffentlichte Fischer[1]) seine Abhandlung über das Ödem. In Wirklichkeit stellte er in dieser Arbeit nur die Daten aus seinen früheren Arbeiten über das Thema zusammen, erweiterte sie und verband sie miteinander.

Seit 1907 hatte er bei Experimenten an Fröschen, bei denen er ein Bein über dem Schenkel fest zusammenschnürte, so daß jede Zirkulation aufhörte, und sie dann in genügender Wassermenge hielt, gesehen, daß das abgeschnürte Glied viel stärker als das entsprechende intakte Glied anschwoll. Nach Amputation und Wiegen der Extremitäten fand er einen großen Gewichtsunterschied, und zwar stets zugunsten der

---

[1]) M. H. Fischer, Arch. f. d. ges. Physiol. 124, 69; 125, 99 bis 396; 127, 1 bis 46, 1908 bis 1909. — Derselbe, Das Ödem. Deutsche Übersetzung von K. Schorr u. W. Ostwald. Dresden 1910. — Derselbe, Die Nephritis. Deutsche Übersetzung von H. Handovsky u. W. Ostwald. Dresden 1912. — Derselbe u. G. Moore, Americ. Journ. of Physiol. 20, 330, 1907.

unterbundenen. Bei Kontrolltieren, die auf dieselbe Weise behandelt, aber auf dem Trocknen aufbewahrt wurden, konstatierte er statt einer Schwellung eine Volum- und Gewichtsabnahme des unterbundenen Gliedes. Daraus schloß er, daß die Ursache des Ödems in den Geweben selbst ihren Sitz haben muß; diese werden ödematös, nicht weil Wasser in sie eingeführt wird (infolge Druckzunahme), sondern weil sie infolge von in ihrem Innern eintretenden Veränderungen gezwungen werden, Wasser von jeder zugänglichen Stelle her zu absorbieren.

Welches sind nun die Stoffe, die bei ihrer Entwicklung diese Wasserabsorption verursachen? Die Antwort auf diese Frage erhielt Fischer, indem er das Verhalten der tierischen Kolloide verschiedenen Flüssigkeiten gegenüber studierte.

Er fand, daß das in verschiedene sauere Lösungen eingetauchte (Rinder-)Fibrin stärker quillt als das in destilliertes Wasser gebrachte, daß diese Quellung innerhalb gewisser Grenzen dem Konzentrationsgrad der Säuren untergeordnet ist und von Säure zu Säure variiert, jedoch unabhängig von der Stärke der Säure selbst. Auf diese Weise konnte er bei ihnen eine Stufenfolge ihrer Quellungstätigkeit festsetzen, bei der die erste Stelle — in absteigender Ordnung — der HCl zukommt, die letzte der H_2SO_4.

Fischer wies in der Folge nach, daß auch die Alkalien dieselbe quellende Wirkung wie die Säuren ausüben, ja in höherem Grade, im Verhältnis 5 : 3. Die Salze dagegen vermindern die Quellung des Fibrins, das schon mit Säuren und mit Alkalien behandelt worden ist. Die Nicht-Elektrolyte üben dagegen keinen Einfluß auf den Quellungsvorgang aus. Die Aufnahme und der Verlust von Wasser des Fibrins stellt nur approximativ einen reversiblen Vorgang dar, d. h. wenn es unter irgendeinem Einfluß gequollen ist, kann es nicht vollständig zum früheren Zustand zurückkehren, wenn es den ursprünglichen Bedingungen wieder ausgesetzt wird, sondern bleibt stets mehr oder weniger verändert.

Nach seinen Versuchen mit Fibrin wiederholte Fischer dieselben Experimente mit Gelatine (die schon Spiro[1]), W. Ostwald[2]) u. a. zum Gegenstand ihres Studiums gemacht hatten). Er bestätigte die Resultate anderer Forscher und konstatierte, daß es sich auf vollkommen dem Fibrin analoge Weise verhält. Von den isolierten Kolloiden ging er alsdann zu Untersuchungen an den Geweben über, indem er an Froschmuskeln experimentierte, wie schon vor ihm J. Loeb[3]), Webster[4]) und Overton[5]) es getan hatten. Auch hier konstatierte er in vollkommener Übereinstimmung mit diesen Autoren dieselben Erscheinungen, nämlich Quellungsfähigkeit in Anwesenheit von Säuren und Alkalien, entgegengesetzte Wirkung in Anwesenheit von Salzen. Nur soll die Anordnung

[1]) K. Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 276, 1904.
[2]) W. Ostwald, Arch. f. d. ges. Physiol. 108, 563, 1905.
[3]) J. Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 69, 1; 75, 303, 1898 bis 1899.
[4]) Webster, zit. von M. Fischer.
[5]) Overton, Arch. f. d. ges. Physiol. 92, 115, 1902; 105, 176, 1904.

der Säuren oder Salze in der von Fischer für das Fibrin gefundenen Stufenfolge etwas modifiziert werden. Auch bei den Muskeln ist der Quellungsvorgang nicht vollständig reversibel.

Endlich fand Fischer dieselben Quellungsgesetze in den enucleierten Rinds-, Schaf- und Schweinsaugen. Die Augen quellen mehr in den Säuren als in den gleichwertigen Alkalien. Unter geeigneten Bedingungen absorbieren die Augen so viel Wasser, daß sie hart werden, wie dies beim Glaukom der Fall ist, und bisweilen kommt es sogar zum Platzen der Sclera.

Als er von diesen Tatsachen ausging, wurde er zu dem Gedanken veranlaßt, daß die Zellen der Gewebe die Hauptrolle bei der Wasseraufnahme spielen, weil ihr Protoplasma aus einer Mischung von verschiedenen Kolloidlösungen bestehen würde, von denen ein großer Teil durch albuminoide Kolloidlösungen repräsentiert ist, die denen des Fibrins, der Gelatine usw. analoge physiko-chemische Eigenschaften haben. Hiernach gelangt man leicht dazu, nach Fischer die Natur und die Ursachen des Ödems zu erklären.

Der ödematöse Zustand tritt ein, wenn in Gegenwart einer genügenden Menge Wasser die Affinität der Kolloide der Gewebe gegenüber Wasser über jenes Maß gesteigert wird, das man gewohnt ist als das normale zu bezeichnen.

Die Anhäufung von Säure innerhalb der Gewebe als Folge entweder ihrer abnormen Bildung oder der ungenügenden Entfernung solcher, die sich normalerweise in den Geweben bildet, ist die Hauptursache für diese Erhöhung der kolloidalen Affinität gegenüber Wasser. Daneben muß auch noch die Möglichkeit ins Auge gefaßt werden, zumindest einen Teil der Ursachen, durch die die Affinität der Kolloide gegenüber Wasser gesteigert wird, in der Bildung oder Anhäufung von Stoffen zu erblicken, die auf die Kolloide in ähnlicher Weise wie die Säuren einwirken. Oder es kann auch eine Veränderung der Kolloide selbst stattfinden, die sie aus einem Zustande, in dem sie nur wenig Affinität für Wasser besitzen, in einen solchen verwandelt, in dem diese Affinität bedeutend gesteigert ist (Fischer, S. 97).

Daß bei vielen von Ödemen begleiteten Krankheiten im Harn oder im Blut eine größere Menge von Säuren als unter normalen Verhältnissen wirklich vorhanden ist, haben mehrere Autoren gefunden, z. B. bei Anämie, Chlorose, Inanition, Gangrän usw.

Eine der Hauptursachen von Säure- und mithin, nach Fischer, von Ödembildung scheint ungenügende Sauerstoffaufnahme zu sein.

Demzufolge wären Kreislaufstörungen die Ursache von Ödem, nicht insofern als sie eine mechanische Druckstörung darstellen, sondern aus dem Grunde, weil sie Armut an Sauerstoff in den Geweben und Anhäufung von CO_2 in ihnen herbeiführen, zwei äußerst günstige Bedingungen für die Entwicklung von Milchsäure, die alsdann im Harn erscheint (Araki)[1].

[1]) T. Araki, zit. von Fischer.

Eine weitere Stütze seiner Lehre erhielt Fischer durch in Gemeinschaft mit G. Moore[1]) ausgeführte Experimente, die beide Forscher machten, um zu sehen, ob, wenn sie Bildung von Säuren bei Tieren veranlaßten, auch Ödembildung verursacht würde. Zu diesem Zweck bedienten sie sich einer Reihe von Giften: Morphium, Strychnin, Cocain, Arsen- und Uraniumsalze, sowie CO, indem sie gerade diejenigen auswählten, die T. Araki in seinen Arbeiten als die am besten zur Bildung von übermäßigen Mengen von Säuren (namentlich Milchsäure) geeigneten bezeichnet hatte. In der Tat fand Fischer, daß Injektion eines jeden dieser Gifte in den Lymphsack der (in Wasser gehaltenen) Frösche bei ihnen Ödem verursachte, wobei ihr Körpergewicht in erheblicher Weise zunahm.

Nachdem Fischer so die Grundlagen seiner Lehre gelegt und ausführlich erörtert hat, findet er ihre Anwendung auch bei den speziellen Formen von Ödem, wie nephritisches Ödem, Lungenödem, Stauungsödeme usw., und besonders beim Glaukom, das er mit den gewöhnlichen Erscheinungen von kolloidaler Quellung identifiziert. Daß er damit vielleicht der Wahrheit nahe kommt, würde, wie es scheint, aus den guten Resultaten hervorgehen, die er bei der Behandlung gewisser Fälle von Glaukom erhielt. Tatsächlich gelang es ihm, im Verein mit Thomas[2]) bei einer Reihe von Glaukomatosen den intraokularen Druck durch Injektionen von citronensaurem Natrium unter die Conjunctiva zn erniedrigen.

Fischer begnügte sich aber nicht damit, daß er den von ihm hervorgehobenen Erscheinungen die Entstehung der Ödeme zuschrieb. Er wollte ihnen eine viel allgemeinere, sozusagen philosophische Bedeutung verleihen, indem er sich auch auf sie berief, um Naturerscheinungen höherer Ordnung (wie das Wachstum der Pflanzen usw.) zu erklären. Und noch mehr — hier und da finden sich in der zitierten Arbeit Andeutungen und Sätze, die beweisen, daß Fischer derartigen Erscheinungen eine hervorragende Bedeutung sogar bei der Differenzierung zwischen Leben und Tod der Zellen und der Gewebe beilegt. Indem er von den Lehren anderer Autoren über das Ödem spricht, sagt Fischer nämlich: „. . . nur zu oft findet man auch gute Ansätze zu einer Erklärung auf mechanischer Basis vermischt mit den sogen. Vorstellungen von Aktivitäten des lebenden Protoplasmas.“ (Das Ödem, S. 124.) Und an anderer Stelle, nachdem er gesagt hat, daß Versuche, deren Ziel darin bestand, die von anderen Autoren zur Erklärung des Ödems beim Menschen mystischen Hypothesen in gesunde Lehren umzuwandeln, fehlgeschlagen sind, fährt er fort: „. . . so ging man zurück auf die noch mystischeren Eigenschaften der lebenden Zellen“ (ibidem, S. 6). Und wieder schreibt er, ehe er sich anschickt, die Lehren anderer Autoren über die Ursachen der Wasserfixierung von seiten der Gewebe und über die Ursachen der Schwankungen dieser Wasserfixierung zu erörtern: „Von allem Anfange an können wir allerdings alle

[1]) G. Moore, siehe G. Fischer.

[2]) Thomas, zit. von Fischer.

jene Erklärungen außer acht lassen, welche „vitalistischen", „neovitalistischen" oder „physiologischen" Charakter tragen. — Das sind alles nur wirkungslose Arzneien gegen ein Leiden, dessen Diagnose man eben nicht finden konnte" (ibidem, S. 83).

Und endlich präzisiert er seinen Gedanken noch besser, indem er schreibt: „Bringt man einen Froschmuskel in destilliertes Wasser, so erfährt er mit der Zeit eine fortschreitende Gewichtszunahme . . . Offenbar quillt der Muskel nur, weil er vom Körper abgetrennt wurde. Die Folge der Abtrennung des Muskels vom lebenden Körper besteht darin, daß der Muskel dann saure Reaktion entwickelt" (ibidem, S. 165).

Die von Fischer dargelegten Gedanken gaben sofort reichlichen Stoff zur Erörterung, indem sie natürlich je nach den verschiedenen Autoren auf günstige Beurteilung oder strenge Kritik stießen.

Wir wollen rasch diejenigen Autoren anführen, die sich nach der Publikation Fischers mit dem Thema beschäftigt haben.

Unter den ersten zitieren wir den entschiedensten Gegner, nämlich Marchand[1]). Er machte darauf aufmerksam, daß beim Ödem die Durchtränkung der Zellen eine sehr leichte ist, während die Maschen der Gewebe mit Flüssigkeit angefüllt sind. Ferner kann die Bedeutung der Kreislaufbedingungen nicht in Abrede gestellt werden. Das Beispiel der beim Coma diabeticum entwässerten Gewebe spricht gegen die Säurelehre. Damit verwirft der Autor die kolloidale Lehre Fischers, weil sie klar erwiesene physiologische und anatomische Tatsachen, namentlich die Bedeutung der vasomotorischen Vorgänge, vollständig unberücksichtigt läßt.

Gilbert[2]) erklärt sich ebenfalls in einer seiner Publikationen über das Glaukom als Gegner der Lehre Fischers, da er der Ansicht ist, das Glaukom werde verursacht durch Störung im allgemeinen Kreislauf mit Erhöhung des Blutdruckes usw., was eine größere Transsudation von Flüssigkeit hervorrufe. Ferner sah er, was in vollständigem Widerspruch mit den von Fischer berichteten Resultaten steht, daß die von ihm versuchten Injektionen von citronensaurem Natrium den Druck nicht vermindern. A. R. Moore[3]) wiederholte die Experimente Fischers an Fröschen, um zu untersuchen, ob die toten Muskeln im Quellungszustande wirklich saure Reaktion ergäben. Er sah, daß nicht saure Reaktion eintrat, ähnlich wie bei den normalen Geweben, auch wenn (mit Wasser) ein gewisser Quellungsgrad erreicht worden war, während die Muskeln saure Reaktion auch dann zeigten, wenn sie in sehr verdünnten Milchsäurelösungen nicht quollen. Der Autor schließt, indem

---

[1]) J. Marchand, Das Ödem im Lichte der Kolloidchem. Centralbl. f. Path. 22, Juli 1911.

[2]) W. Gilbert, Beiträge zur Lehre vom Glaukom. Graefes Archiv 82, August 1912.

[3]) A. R. Moore. Läßt sich ein Ödem durch den Säuregehalt erklären? Arch. f. d. ges. Physiol. 147, 1912.

er sagt, die Anwendung der Hypothesen Fischers auf das Ödem bei lebenden Tieren ermangele einer jeglichen experimentellen Grundlage. Mehrere Autoren beschränkten sich auf bloß kontrollierende Untersuchungen, wie v. d. Hoeve[1]) und Beutner[2]). Der letztere studierte die Art, wie die Muskeln quellen, indem er sie mit angesäuerten Salzlösungen in verschiedener Konzentration behandelte. Die Resultate, zu denen er gelangte, bestanden darin, daß die Quellung in den lebenden Muskeln im wesentlichen infolge osmotischer Vorgänge, in den toten infolge kolloidaler Vorgänge entsteht, und daß M. Fischer diese beiden Arten von Quellung nicht berücksichtigte. Nicht zugunsten der kolloidalen Lehre vom Ödem sprechen, sondern eine rein objektive Ergänzung der Forschungen Fischers bilden die Untersuchungen von Ruben[3]) über enucleierte Tieraugen und über vom Auge isolierte Gewebe; diese Untersuchungen wiesen nach, daß sich an den von Fischer beschriebenen Quellungsvorgängen die Leder- und Hornhaut beteiligen, nicht der Glaskörper. Zugunsten der Theorien Fischers sprechen dagegen die Experimente, bei denen derselbe Ruben, als er unter der Conjunctiva HCl-Lösungen in verschiedener Konzentration injizierte, in den Augen lebender Kaninchen wirklich eine Druckerhöhung fand, die durch Salze herabgesetzt werden konnte und sich unabhängig vom Blutdruck infolge der Quellungsenergie der Lederhaut entwickelte. Ein anderer Autor, der einen Beitrag von Beobachtungen liefert, die bloß den Zweck verfolgen, Einwände gegen die Ausdehnung der Untersuchungen Fischers zu erheben, ohne daß man ihn weder zu den Anhängern noch zu den Gegnern der kolloidalen Lehre dieses Autors zählen kann, ist Pincussohn[4]). Er fand gleichfalls, daß infolge Einwirkung der Säuren die Quellung der Gelatine, der Muskeln und zum Teil auch der Knorpeln im Vergleich mit den mit destilliertem Wasser behandelten gesteigert wird; die der Leber, der Niere, der Milz und der Lungen wird dagegen in der Regel herabgesetzt. Zwischen den einzelnen Organen sollen graduelle Unterschiede bestehen. Die Rindenzone der Niere soll in den Säuren und im Wasser stärker quellen als die Marksubstanz.

Endlich haben wir noch einen Autor, Gies[5]), zu erwähnen, der

---

[1]) v. d. Hoeve, Schwellung der Gewebe des Auges. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 13, Mai 1912.

[2]) R. Beutner, Unterscheid. kolloid. u. osmotisch. Schwellung beim Muskel. Diese Zeitschr. 39, März 1912.

[3]) L. Ruben, Über Steigerung des Augendruckes durch Quellung der Gewebskolloide. 37. Zusammenk. d. Ophth. Ges. in Heidelberg (August-September 1912).

[4]) L. Pincussohn, Untersuch. über d. Entstehung des Ödems. Zeitschr. f. experim. Pathol. 10, Februar 1912.

[5]) W. H. Gies, Studies of enzymes as possible factors in the developem. of edema. Biochem. Bull. 1, 1912. — Derselbe und Tracy, The influence of proteases on the swelling of fibrin, etc., ibidem. — Derselbe und Miller, Is experimental edema, etc. . . . attended by protein hydrolysis? ibidem.

nicht sowohl die Lehre selbst erörtert als ihr ein neues, der Beachtung würdiges Element hinzufügt. Um die Untersuchungen Fischers zu ergänzen, wollte er feststellen, welchen Anteil die Fermente an der Entwicklung des Ödems haben. Dabei konnte er in Gemeinschaft mit Tracy nachweisen, daß die Wasserabsorption von seiten des Protoplasmas offenbar beeinflußt wird durch die Hydrolasen, unabhängig von der Acidität und von der Alkalescenz. Wenn auch diese Hydrolase in den ödematös gemachten Gewebsstücken nicht angetroffen werden konnte (Gies und Müller), so nahm er doch als bestätigt an, daß die Fermente eine wichtige Rolle bei der Quelllung der Gewebe spielen.

Dies sind in Kürze die Urteile aller jener Forscher, die, angeregt eben durch die Neuheit und Kühnheit der Fischerschen Auffassung, sich beeilten, ihren Wert zu prüfen.

Von einer Arbeit müssen wir aber noch sprechen, die wir absichtlich erst an letzter Stelle erwähnen, da wir sie genauer analysieren müssen wegen der Analogie, die sie mit dem Thema unserer Untersuchungen zeigt. Es ist dies die Abhandlung J. Bauers[1]) über die Quellung des Nervengewebes.

Das Ziel, das sich Bauer setzt, besteht darin, zu untersuchen, ob die Lehre Fischers auch auf die Elemente des Nervensystems anwendbar ist. Dieser Umstand ist von sehr großer Bedeutung, denn wenn man den Beweis dafür liefern könnte, so wäre es offenbar leicht, mit Hilfe desselben die Hirnschwellung zu erklären.

Wir sagen Schwellung und nicht Hirnödem, weil die erstere wegen ihrer angenommenen physikalisch-chemischen Zusammensetzung am ehesten mit den von Fischer in den verschiedenen Geweben beobachteten Schwellungen indentifiziert werden kann.

Der Autor erwähnt auch im Hinblick auf diese Anschauungsweise die Beobachtungen von Pötzl und Schüller[2]) über zwei Fälle von akuter Schwellung bei Syphilitikern, und von Klose und Vogt[3]) über die Anwesenheit dieses Befundes bei thymektomierten Hunden; infolge dieser Beobachtungen sehen sich die Autoren veranlaßt, die erhöhte Quellbarkeit des Nervensystems der Anhäufung von Milchsäure oder anderer Säuren (Nucleinsäure) im Organismus zuzuschreiben; dies steht also in vollkommener Analogie zu dem, was, wie Fischer annimmt, hinsichtlich der Kolloide der Gewebe eintritt.

Bauer gibt zu, daß derartige Anschauungen ohne Zweifel sehr plausibel sind, aber bis jetzt sind sie, wie er meint, nicht durch entsprechende Untersuchungen erwiesen. Man muß zuerst beweisen, daß die Nervensubstanz eine Zunahme der Quellungsfähigkeit den Säuren gegenüber zeigt, und zwar in derselben Weise wie die Augenmuskeln und die Kolloide im allgemeinen.

---

[1]) J. Bauer, Studien über Quellung von Nervengewebe. Arbeiten aus d. Neurol. Inst. a. d. Wiener Univ. 19, 1911.

[2]) O. Pötzl und A. Schüller, Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Physiol. 3, 1910.

[3]) H. Klose und H. Vogt, Beiträge z. klin. Chir. 69, 1910.

Daran zweifelt er a priori, weil im Gehirn emulsoiden Kolloiden gegenüber auch Lipoidstoffe vorhanden sind, die sich bezüglich ihrer Hemmungsfähigkeit umgekehrt wie die Emulsoide selbst insofern verhalten, als sie ihre Hydrophilie bei saurer Reaktion vermindern [vgl. Arbeiten von Höber[1]), Porges und Neubauer[2]), Przibram[3])].

Der Autor nahm sich deshalb vor, zu untersuchen, ob die Nervensubstanz hinsichtlich der Bedingungen ihrer Quellungsfähigkeit sich auf dieselbe Weise verhält wie die von Fischer untersuchten Kolloide, und demzufolge, ob Fischers Lehre in jeder Hinsicht auf das Nervensystem angewendet werden könne.

Er experimentierte, indem er Stückchen von Nervensubstanz (fast ausschließlich Stücke von Kaninchen- und Katzenmark) in Lösungen von verschiedenem Aciditätsgrad eintauchte und sie nach einer gleichen Zeit wie andere in Wasser aufbewahrte Stückchen wog. In alkalischen Lösungen war es nicht möglich die Untersuchungen anzustellen, weil in ihnen eine Auflösung der Nervensubstanz eintritt. In den Salzen war stets ein Hindernis für die Quellung vorhanden.

Er fand, daß das Gewebe in Wasser mehr quoll als in Säurelösungen, und daß nur in sehr verdünnten Säurelösungen bisweilen eine Andeutung von Quellung vorhanden war, während bei etwas stärkeren Konzentrationen sofort eine entgegengesetzte Wirkung eintrat. Demzufolge wirken die Säuren entquellend auf Nervengewebe ein, indem sie die Quellungsfähigkeit des Nervengewebes hemmen; sie zeigen ein ähnliches Verhalten, wie es schon vorher für die Lipoide von Porges und Neubauer nachgewiesen worden war. Deshalb gelangt der Autor zu der Schlußfolgerung, daß der Kolloidkomplex, den wir im Nervengewebe finden, sich auf eine wesentlich verschiedene Weise verhält von den Kolloiden, an denen Fischer experimentierte und auf deren Verhalten er seine Lehre vom Ödem gegründet hat.

Deshalb kann die Anwendung dieser Lehre auf das Zentralnervensystem nicht stattfinden, wie man auch ihre Gültigkeit für Organe mit starkem Gehalt an Lipoiden nicht zugeben kann[4]).

---

1) R. Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. **106**, 399; **133**, 1910.

2) D. Porges und E. Neubauer, diese Zeitschr. 7, 182, 1907.

3) E. Przibram, Kolloidchem. Beihefte. **2**, Heft 1 u. 2, 1910.

4) In einer Arbeit aus jüngster Zeit (Zeitschr. f. Chemie d. Kolloide, Juni 1912) machen M. H. Fischer und O. Hooker, indem sie auf den Einwand Bauers antworten, darauf aufmerksam, daß das Eintauchen in Wasser gleichbedeutend sei mit dem Eintauchen in sehr schwache Säurelösungen, da die Produkte der Autolyse des Gehirns selbst sich bei saurer Reaktion im Wasser verbreiten. Was sodann den entgegenesetzten Einfluß der Flüssigkeiten betrifft, so kann er nicht in Zweifel gezogen werden; offenbar werden aber die Hemmungswirkungen der algebraischen Summe der positiven Affinitäten der Kolloide und der negativen Affinität der Lipoide entsprechen.

Wie man sieht, ist dies eine Erwiderung, die nicht viel sagen will.

„Es müßte denn“ — fügt Bauer dann hinzu — „eines Tages einwandfrei erwiesen werden, ob eine Säuerung intra vitam andere Quellungseffekte im Nervensystem hervorbringt, als bei unseren Versuchen.“

Indem wir das zusammenfassen, was für und gegen die Lehre Fischers vorgebracht wurde — abgesehen von der Konstatierung, daß die Mehrzahl der Autoren sich ungünstig über sie ausspricht oder ihr zweifelnd gegenübersteht —, müssen wir noch eine Tatsache konstatieren, nämlich daß bisher die Untersuchungen der Forscher (mit Einschluß Bauers) sich fast immer darauf beschränkt haben, das Verhalten isolierter organischer Stoffe, toten Gewebes oder soeben vom Tier abgetrennter anatomischer Teile zu studieren.

Niemand hat es bisher unternommen, Untersuchungen an lebenden Säugetieren anzustellen, um zu kontrollieren, ob die beschriebenen Erscheinungen auch intra vitam eintreten[1]).

Jedermann sieht ein, daß die Bedingungen in den beiden Fällen verschieden sein müssen und wie wichtig es wäre, zu erforschen, ob intra vitam die Reaktion der Gewebe und ihrer konstitutierenden Elemente, den angenommenen ödematogenen Stoffen gegenüber, dieselbe ist wie die in vitro angetroffene.

Bauer selbst erkennt, wie wir gesehen haben, die Notwendigkeit dieses Nachweises an und gibt zu, daß es auch sein kann, daß das lebende Gewebe sich verschieden von dem toten verhält.

Auch von diesem Gesichtspunkte erscheinen uns also diese unsere ersten Experimente mehr als gerechtfertigt, die darin bestehen, daß wir versuchen, beim lebenden Tiere an der Hand der Fischerschen Lehre diejenige Quellung der Nervensubstanz hervorzurufen, die in vielen Fällen, aller Wahrscheinlichkeit nach, das Substrat des charakteristischen Zustandes zu bilden scheint, der unter dem Namen akute Hirnschwellung bekannt ist.

---

[1]) Als Ausnahme wollen wir hier an einen Versuch dieser Art erinnern, den Bauer selbst zum einfachen Zweck der Orientierung gemacht hat. Er versuchte nämlich eine Säurevergiftung an 11 Mäusen durch subcutane Injektionen von sehr verdünnter HCl herbeizuführen; dann bestimmte er post mortem das absolute und spezifische Gewicht des Gehirns und suchte festzustellen, ob ein Ödem entstanden war. Er erhielt dabei kein positives Resultat (loc. cit.)

Und nun wollen wir ohne weiteres unsere Experimente schildern. Ehe wir dies aber tun, müssen wir darauf aufmerksam machen, daß infolge des Verlaufes, den sie gleich im Anfang nahmen, das Hauptziel unserer Arbeit einigermaßen verfehlt wurde, so daß wir uns gezwungen sahen es teilweise abzuändern, indem wir unsere Experimente auch auf andere vom Nervengewebe verschiedene Gewebe ausdehnten; dies geschah, weil es uns gleich bei Beginn der ersten Untersuchungen notwendig erschien, die Fischersche Lehre auch bei diesen letzteren Geweben einer experimentellen Kontrolle zu unterziehen.

Zu unseren Versuchen wählten wir unter den Säuren die Milchsäure und die Salzsäure als diejenigen, die nach Fischer in höherem Grade das Vermögen besitzen, die Quellung der Gewebe zu begünstigen, und auch deshalb, weil Fischer eben auf die Einwirkung der Milchsäure die bei den verschiedenen von ihm studierten Vergiftungen auftretenden Ödeme zurückführt.

Was die Salzsäure betrifft, so wurde stets die Lösung $^{n}/_{100}$ in destilliertem Wasser verwendet; bei der Milchsäure wurde bald die Konzentration von $1\,^0/_0$, bald die von $10\,^0/_0$, sowohl in Wasser als in isotonischer ($7\,^0/_0$) Rohrzuckerlösung gewählt. Diese Rohrzuckerlösung wurde ausgewählt, um die in den Organismus einzuführenden Flüssigkeiten isotonisch zu machen, statt der gewöhnlichen physiologischen Lösung, die, da sie ein Salz enthält, nach der Fischerschen Lehre offenbar die von den Säuren ausgeübte ödematogene Wirkung beeinträchtigt haben würde.

Die erste Reihe unserer Experimente wurde zu dem Zwecke durchgeführt, um zu sehen, ob und welche Modifikationen (im Sinne der gesteigerten oder verminderten Affinität zum Wasser) im Innern der Gewebe von lebenden und gesunden Tieren eintreten, wenn saure Stoffe in ihren Organismus eingeführt werden.

Das Mittel, das wir wählten, um die zu prüfenden Lösungen mit den verschiedenen Geweben in Kontakt zu bringen, war natürlich die Injektion; unsere Versuchstiere waren Kaninchen.

Die Injektionen wurden, je nach dem Falle, subcutan gemacht (in die dorsale Fläche des Ohres oder in die Flanke); zwischen die Muskeln; auf intrakraniellem Wege (unter die Dura mater nach vorausgegangener Trepanation des Schädels); auf intravenösem Wege (in die Vv. marginales des Ohres); auf arteriellem Wege (in die A. femoralis). Die Technik der Injektionen war die gewöhnliche; wir wollen nur auf die hinweisen, die wir bei den intraarteriellen Injektionen befolgten.

Die A. femoralis des Kaninchens wurde bloßgelegt, isoliert und an einer zunächst liegenden Stelle zugeschnürt; dann wurde, nachdem wir einige Minuten gewartet hatten, indem wir den hinteren Teil des Tieres hoch hielten, damit die Arterie sich so vollständig als möglich entleerte, in sie unterhalb der unterbundenen Stelle und unter mäßigem Druck der Inhalt einer Pravazschen Spritze, 1 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit, injiziert.

Unmittelbar nachher wurde die Arterie auch unterhalb der Injektionsstelle unterbunden mit einer Schlinge, die schon, ehe die Injektion vorgenommen wurde, angebracht worden war, ohne sie zusammenzuziehen, um den unvermeidlichen Bluterguß durch zurückfließendes Blut zu verhindern. Endlich wurde die Wunde durch eine Naht der Haut wieder geschlossen.

Für die verwendeten Lösungen nahmen wir stets destilliertes Wasser, das vorher im Autoklav sterilisiert worden war, und alle Operationen wurden unter Beobachtung der erforderlichen antiseptischen Kautelen vorgenommen.

Es würde uns zu lange aufhalten, wenn wir im einzelnen alle von uns gemachten Experimente beschreiben wollten. Wir stellen in der folgenden Tabelle A alle zusammen, die sich auf das Verhalten der Milchsäure beziehen.

Bei Prüfung dieser Tabelle nimmt man sofort wahr, daß der von uns unternommene Versuch, beim lebenden Tiere die besonderen Aciditätsbedingungen zu verursachen, die nach Fischer das Ödem veranlassen müßten — wenigstens soweit er die Milchsäure betrifft —, negativ ausgefallen ist. Die leichten Ödeme, die wir bisweilen mit den Injektionen von (10 %iger) Milchsäure erhielten, waren stets von Temperaturzunahme des Teiles begleitet, weshalb sie einfach als offenbar durch die ätzende Wirkung der Säure verursachte Entzündungserschei-

nungen erklärt werden müssen; diese Wirkung zeigte sich, wie wir sehen werden, noch ausgeprägter bei den Injektionen der reinen Säure.

Tabelle A.

Experimente mit Milchsäure.

Art der Injektionen	Reihenfolge der Experimente	Verwendete Flüssigkeiten		Resultate
Subdurale	1	1 ccm	Milchsäure (1 %) in Rohrzucker (7 %)	Zeigt weder sofort noch später irgendeine Störung.
	2	1 „	Milchsäure (10 %) in Rohrzucker (7 %)	Leidet nicht — zeigt nur ein schnell vergehendes Ödem am Augenlid auf der operierten Seite.
	3 (Kontrolle)	1 „	Rohrzucker (7 %)	Keine Störung.
Intravenöse (V. marginalis des Ohres)	4	1 ccm	Milchsäure (1 %) in H_2O	Kein Ödem.
	5	1 „	Milchsäure (1 %) in Rohrzucker (7 %)	Kein Ödem.
Intraartielle (A. femoralis)	6	1 ccm	Milchsäure (1 %) in H_2O	Kein Ödem.
	7[1]	1 „	Milchsäure (1 %) in Rohrzucker (7 %)	Kein Ödem.
	8	1 „	Milchsäure (10 %) in Rohrzucker (7 %)	Leichtes, flüchtiges Ödem der Mm. gastrocnemii.
Intramuskuläre (in die Schulter)	9	1 ccm	Milchsäure (10 %) in Rohrzucker (7 %)	Leichte, flüchtige Schwellung an der Injektionsstelle.
	10 (Kontrolle)	1 „	Rohrzucker (7 %)	Nichts.

[1]) Bei diesem Kaninchen, einem Kontrolltier, wurden V. und A. femoralis der nicht injizierten Extremität unterbunden. Auch bei diesem Tiere zeigte sich keine Erscheinung irgendwelcher Art.

Tabelle A (Fortsetzung).

Art der Injektionen		Reihenfolge der Experimente	Verwendete Flüssigkeiten		Resultate
Subcutane	Ohr	11	1 ccm	Milchsäure (1 %) in Rohrzucker (7 %)	Flüchtige Anschwellung und Röte.
	Flanke	12	10 „	Milchsäure (1 %) in Rohrzucker (7 %)	Keine Störung.
		13	10 „	Milchsäure (10 %) in Rohrzucker (7 %)	Harte, schmerzhafte Erhebung — Haut etwas mehr verdichtet um die Injektionsstelle herum. Stirbt nach 11 Tagen infolge eines sehr großen Abscesses, der sich an der injizierten Seite gebildet hat.
		14 (Kontrolle)	10 „	Rohrzucker (7 %)	Keine Störung.

Nachdem die Versuche mit der Milchsäure fehlgeschlagen waren, wandten wir unsere Aufmerksamkeit der Salzsäure zu und wiederholten mit ihr fast in demselben Maße die mit jener gemachten Experimente. Sie sind in der folgenden Tabelle B zusammengestellt.

Für die Salzsäure verwendeten wir, wie schon bemerkt wurde, stets eine $^{n}/_{100}$-Lösung, die mit destilliertem Wasser hergestellt worden war.

Als Kontrollflüssigkeit verwendeten wir steriles destilliertes Wasser.

Die Resultate sind womöglich noch gleichförmiger und entschiedener negativ, als die mit der Milchsäure erhaltenen.

Da wir dachten, die von uns zur Hervorrufung des Ödems verwendeten Konzentrationen der Säuren seien vielleicht zu gering, wollten wir diese Konzentration hinsichtlich der Milchsäure auf einen viel höheren Grad, auf 30 %, bringen, und wir injizierten sie, indem wir als Injektionsstelle vorzugsweise die Haut der dorsalen Fläche des Ohres wählten. Dieser Teil bietet nämlich den Vorteil, daß er wenig von Gefäßen durchzogen und deshalb wenig für eine rasche Absorption geeignet ist;

Tabelle B.
Experimente mit Salzsäure.

Art der Injektionen	Reihenfolge der Experimente	Verwendete Flüssigkeiten	Resultate
Subdurale	15	n/100-Salzsäure	Nichts.
	16 (Kontrolle)	Steriles Wasser	Nichts.
Intraartielle (A. femoralis)	17	n/100-Salzsäure	Abgesehen von einer flüchtigen Verhärtung im operierten Teile sonst nichts Bemerkenswertes.
	18 (Kontrolle)	Steriles Wasser	Nichts.
Intramuskuläre (in die Glutaei)	19	n/100-Salzsäure	Nichts.
	20 (Kontrolle)	Steriles Wasser	Nichts.
Subcutane (in die Flanke)	21	n/100-Salzsäure	Nichts.
	22 (Kontrolle)	Steriles Wasser	Nichts.

außerdem eignet er sich ev. dazu, auch die geringsten Spuren der in ihm eintretenden Veränderungen deutlich erkennen zu lassen. Gleichzeitig mit den Injektionen von Milchsäure machten wir unter denselben Modalitäten auch Injektionen von Salzen, die ätzende Eigenschaften besaßen, in starker Konzentration, um zu sehen, ob die ev. ödematogene Wirkung der konzentrierten Säure nicht ausschließlich ihren ätzenden Eigenschaften zuzuschreiben sei.

Wir berichten ohne weiteres über unsere Experimente.

Experiment 23.

Einem Kaninchen wird unter die Haut eines Ohres 1 ccm 30%iger Lösung von Milchsäure in physiologischer Lösung eingespritzt.

Nach 4 Stunden: Man bemerkt ein mäßiges Ödem an der Injektionsstelle und an der Basis des Ohres, begleitet von Röte und einer merklichen Temperaturerhöhung des Teiles.

Nach 13 Stunden: Das Ödem ist viel beträchtlicher und breitet sich auch um die Wurzeln des Ohres herum aus.

Nach 24 Stunden: Man bemerkt, daß die Zone, in die die Injektion gemacht wurde, ihre Farbe geändert hat und schwarz gewordene, dem

Anschein nach mit Thromben gefüllte Venen zeigt. Das Ödem nimmt allmählich ab.

Nach 29 Stunden: Das Ödem ist lokalisiert, vor allem an der Grenze zwischen dem gesunden und dem veränderten Gewebe, und es ist von offenbarer Rötung begleitet.

Nach 55 Stunden: Entzündungserscheinungen sehr vermindert. Die veränderte Zone ist trocken, pergamentartig, braun und in der Mitte durchsichtig geworden.

Experiment 24.

Bei einem Kaninchen werden in die Muskeln der rechten Schulter ca. $^3/_4$ des Inhaltes einer mit reiner Milchsäure gefüllten Pravazschen Spritze injiziert.

Nach 2 Tagen: Es zeigt sich eine umfangreiche Geschwürseiterung, entsprechend der Injektionsstelle. Das Kaninchen hält das Bein zurückgezogen.

Experiment 25.

Einem Kaninchen wird unter die Haut der dorsalen Fläche eines Ohres 1 ccm einer wässerigen, sterilen, 30 $^0/_0$ igen NaCl-Lösung injiziert.

Ein Ödem tritt weder sogleich, noch in der Folge ein. An der Injektionsstelle bleibt eine leichte Verhärtung zurück.

Ins andere Ohr desselben Kaninchens wird $^1/_2$ ccm 30 $^0/_0$ iger Milchsäure injiziert.

Nach $2^1/_2$ Stunden: An der Injektionsstelle ist die Haut ohne Epidermis und ausschwitzend.

Nach 26 Stunden: Entzündungserscheinungen verschwunden. Die veränderte Zone ist braun, trocken und ledern geworden.

Experiment 26.

Einem Kaninchen wird an der gewöhnlichen Stelle und unter den gewöhnlichen Modalitäten 1 ccm wässeriger, 10 $_0/_0$ iger $AgNO_3$-Lösung injiziert.

Nach $2^1/_2$ Stunden: Die Haut ist geschwärzt, es ist kein Ödem vorhanden, auch keine Anzeichen von entzündlicher Reaktion.

Nach 24 Stunden: Das Ohr zeigt eine leichte Verdichtung. Das Tier verendet zufälligerweise, wahrscheinlich nicht infolge der Injektion.

Experiment 27.

Injektion wie oben, 1 ccm Zinkchlorid, 10 $^0/_0$ ige wässerige Lösung.

Nach $2^1/_2$ Stunden: Leichte Verhärtung an der Basis. Haut unverletzt, nicht entzündet.

Nach 24 Stunden: Das Ohr ist nun wieder normal geworden.

Experiment 28.

Einem Kaninchen wird auf die gewöhnliche Weise 1 ccm gesättigter wässeriger $AgNO_3$-Lösung injiziert.

Nach 2 Stunden: Die Haut ist an der Injektionsstelle schwärzlich, geschrumpft und trocken; die ganze Umgebung ist dagegen verdichtet, etwas gerötet und sehr heiß.

Nach 26 Stunden: Der geschwärzte Teil hat sich nicht verändert; Farbe und Temperatur des ödematösen Teiles nähern sich mehr dem Normalen.

Nach 48 Stunden: Verhältnisse unverändert.

Experiment 29.

Ins Ohr eines Kaninchens wird 1 ccm gesättigter Zinkchloridlösung injiziert (dazu wird der Teil der Flüssigkeit verwendet, der infolge Zerfließens in einem $ZnCl_2$ enthaltenden Gefäß oben steht).

Nach 4 Stunden: Der injizierte Teil schrumpft sehr zusammen, wodurch zuerst eine Biegung, dann das Heruntersinken des Ohres veranlaßt wird. Die Zone um die Injektionsstelle herum ist beträchtlich angeschwollen und heiß.

Nach 28 Stunden: Dieselben Verhältnisse. Das Zusammenrollen des Ohres ist noch stärker ausgeprägt.

Nach 50 Stunden: Der distale Teil des Ohres (oberhalb der Injektionsstelle) ist allmählich vollständig geschwunden infolge einer umfangreichen Geschwürseiterung, die die Gewebe zerfressen hat. Infolgedessen bleibt vom Ohr nur ein Stumpf mit zerfressenen, blutenden Rändern übrig.

Es ist augenfällig, daß wir es auch bei dieser Reihe von Experimenten ausschließlich mit Erscheinungen von entzündlicher Natur, mit der in den Geweben durch die starke Konzentration der verwendeten Stoffe hervorgerufenen Reaktion zu tun haben. Daß tatsächlich die so verwendete Milchsäure keine besondere Rolle im Innern der Gewebe, mit denen sie in Berührung kam, gespielt hat, beweist der Umstand, daß eine ähnliche Schwellung, ein ähnliches Entzündungsödem mit den zur Kontrolle dienenden Salzen erhalten wurde. Die Salze üben, wie bekannt, auf die Kolloide eine der der Säuren gerade entgegengesetzte und antagonistische Wirkung aus.

Da wir an diesem Punkte unserer Versuche angelangt sind, könnte man uns einwenden, daß wir mit der einfachen Einführung von Säuren in den Organismus nicht ganz und gar die Bedingungen realisiert haben, die erforderlich sind, um eine größere Wasseraufnahme von seiten der Gewebe hervorzurufen. Nach Fischer ist nämlich bei dieser Reihenfolge von Erscheinungen auch der Oxydationszustand der Gewebe selbst von der größten Bedeutung, denn je spärlicher in ihnen die Menge des

Sauerstoffes ist, desto reichlicher ist die Bildung derjenigen sauren Stoffe, die die Affinität der organischen Kolloide zum Wasser erhöhen.

„Jede Bedingung", sagt Fischer (S. 98), „die in ödematösen Teilen einen Sauerstoffmangel oder eine Anhäufung von Kohlensäureanhydrid verursacht, sei es bei lokalen Affektionen oder bei denen entfernter Organe — wie z. B. des Herzens — hat auch eine Verschlimmerung des Ödems zur Folge." Daß unter solchen Bedingungen wahrhaft eine Überproduktion von Säuren eintritt, war schon früher von Trasaburo Araki nachgewiesen worden. Dieser Autor hat nämlich gefunden, wie wir schon sagten, daß bei Sauerstoffmangel, unabhängig von der Art, wie er entstanden ist, Hunde, Kaninchen, Frösche in ihrem Harn Milchsäure neben verschiedenen anderen abnormen Stoffen absondern.

Deshalb konnte man denken, daß bei unseren Kaninchen, da es sich um vollkommen gesunde Tiere, also um solche mit raschem und vollständigem organischen Stoffwechsel handelt, die eingeführten Säuremengen rasch oxydiert oder im Organismus fixiert und deshalb in ihrer speziellen ödematogenen Funktion beeinträchtigt werden könnten.

Deshalb wollten wir die Experimente wiederholen, indem wir versuchten, die Tiere zunächst Bedingungen geringerer Sauerstoffbildung auszusetzen.

Zu diesem Zwecke befolgten wir nur einige der Methoden, die derselbe Araki vorgeschlagen und als die wichtigsten und sichersten Faktoren der Verarmung an Sauerstoff im Organismus angegeben hat.

Unter ihnen wählten wir die Injektionen von Morphium und die Vergiftung mit Kohlenoxyd.

Was die Morphiuminjektionen anbelangt, mußten wir zuerst mittels vorausgehender Versuche die Widerstandsfähigkeit des Tieres erproben; nach einigen Versuchen überzeugten wir uns davon, daß die tolerierte Maximaldosis 5 ccm 1 %iges Morphiumchlorhydrat betrug.

Das Experiment wurde auf folgende Weise ausgeführt:

Experiment 30.

Bei einem Kaninchen wurden in die V. marginalis eines Ohres 5 ccm 1 %iges Morphiumchlorhydrat, das vorher im Autoklav bei 1/2 Atmosphäre sterilisiert worden war, injiziert.

Das Kaninchen zeigte sich fast augenblicklich niedergeschlagen und schlaftrunken. Nach ungefähr 1 Stunde und während das Tier eine Beute der heftigsten Symptome der Vergiftung war, injizierten wir ihm die Säure, wobei wir als Eingangspforte den subcutanen Weg wählten, da auf diesem die Absorption langsamer geschieht. Wir injizierten zu diesem Zwecke 10 ccm 1 $^0/_0$ ige Milchsäure in sterilem destilliertem Wasser subcutan in die Flanke. Das Kaninchen zeigte folgende Erscheinungen:

Unmittelbar nach der Morphiuminjektion: Sehr niedergeschlagen und schlaftrunken. Das Tier bewegt sich nicht und scheint halb gelähmt zu sein, wenn man es zwingt zu gehen.

Im Moment der Injektion der Milchsäure genau in denselben Verhältnissen.

4 Stunden nach dieser Injektion: Es zeigt sich stets sehr deprimiert, frißt nicht und harnt nicht. Kein Ödem.

Nach 24 Stunden: Das Kaninchen hat gefressen und sich völlig wieder erholt. Es hat Harn gelassen. Kein Ödem. Auch in der Folge zeigte sich kein Ödem.

Das erhaltene Resultat war also auch dieses Mal ein negatives. Nachdem dieser Versuch fehlgeschlagen war, suchten wir festzustellen, ob wir bei Vergiftung mit Kohlenoxyd mehr Glück hätten, und wenn es uns gelänge das Ödem hervorzurufen.

Experiment 31.

Wir stellten das Kohlenoxyd her durch Erhitzung von Oxalsäure mit reiner Schwefelsäure. Das Gemisch von CO und CO_2, das sich gebildet hatte, wurde von der CO_2 befreit, indem wir es in konzentrierter Ätzsodalösung wuschen, und vermittelst einer Röhre auf den Boden eines Glases geleitet, das wie eine Maske dazu diente, das Maul eines Kaninchens mit Gewalt dort festzuhalten. Zu unserem Versuch verwendeten wir eben das Kaninchen, das schon zur Morphiuminjektion gedient hatte, und zwar 5 Tage nach letzterer. Die erzwungene Inhalation von CO wurde so lange fortgesetzt, bis das Tier anfing eine sehr beschleunigte, mühsame Atmung zu zeigen und augenfällige Anzeichen von Vergiftung darzubieten. Sobald die Darreichung von CO aufgehört hatte, wurden subcutan in die Flanke 17 ccm 1 $^0/_0$ ige Milchsäure in Rohrzucker injiziert. Das Tier war einige Zeit sehr niedergeschlagen, erholte sich dann allmählich und kehrte zu normalen Verhältnissen zurück, zeigte aber nie das geringste Ödem.

Experiment 31a.

Das Experiment wurde einige Tage später wiederholt, indem wir immer dasselbe Kaninchen verwendeten, das wir wieder derselben Ausströmung von CO aussetzten; auch bedienten wir uns wieder der schon erwähnten Technik. Diesmal setzten wir die Vergiftung mit größerer Intensität fort als das erste Mal und hörten erst auf, als das Kaninchen bewußtlos wurde.

Nun injizierten wir sogleich subcutan ins Ohr des Tieres 1 ccm

1 %ige Milchsäure in Wasser und gleichzeitig unter die Haut der rechten Flanke 10 ccm derselben Milchsäurelösung.

Auch diesmal erholte sich das Kaninchen, trotz der viel schwereren Symptome, allmählich immer mehr und überlebte, ohne jemals irgend ein Ödem gezeigt zu haben, weder sofort noch nachher.

Es war nur noch eine Aufgabe zu erfüllen, ehe wir die Reihenfolge unserer Experimente zum Abschluß brachten; wir mußten kontrollieren, ob die von uns verwendeten Säurelösungen die von Fischer hinsichtlich der Kolloide beschriebenen Eigenschaften besaßen. Zu diesem Zweck schritten wir zu den folgenden Experimenten mit Fibrin — mit ausgeschälten Rindsaugen — mit Stückchen von Rinderrückenmark.

Fibrin.

Experiment 32.

Das Fibrin verschafften wir uns leicht, indem wir Blut von einem eben geschlachteten Rinde defibrinierten. Das erhaltene Fibrin wurde sorgfältig gewaschen, dann an der Sonne, hierauf im Exsiccator über H_2SO_4 getrocknet und alsdann in einem Mörser in feines Pulver verwandelt. Von diesem Pulver brachten wir 0,25 g in jedes Reagensglas und setzten dann 10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeiten hinzu. Diese waren Wasser — isotonische Rohrzuckerlösung — Milchsäure sowohl in Wasser als in 7 %igem Rohrzucker — Salzsäure ($^n/_{100}$ in Wasser).

Die Resultate bestätigten vollkommen die von Fischer erhaltenen Daten, wie aus der Tabelle C zu ersehen ist.

Tabelle C.

Reagensglas	Fibrin g	Flüssigkeit (10 ccm)	Ursprüngl. Höhe der Säule cm	Höhe nach 24 Stunden cm
1	0,25	Steriles Wasser (Kontrolle)	0,8	1,0
2	0,25	1 %ige Milchsäure in H_2O	0,8	4,3
3	0,25	1 %ige „ in Rohrzucker	0,8	4,3
4	0,25	Rohrzucker (7 %ige Lösg.)	0,8	1,7
5	0,25	Salzsäure ($^n/_{100}$-Lösg.) . .	0,6	2,4

Experiment 33.

In analoger Weise verfuhren wir mit den Rinds- oder Kalbsaugen. Die Augen wurden stets von soeben geschlachteten Tieren genommen.

Auch in diesem Falle stimmten die Resultate vollkommen mit dem von Fischer Gefundenen überein, da die Augen in den Säurelösungen eine deutliche Zunahme an Volumen und Gewicht zeigten, die in der Kontrollflüssigkeit nicht eintrat.

Die erhaltenen Resultate sind die folgenden (siehe Tabelle D):

Tabelle D.

Nr.	Augen vom	Flüssigkeit	Ursprüngl. Gewicht g	Aufeinanderfolgende Gewichte in Gramm nach 16 Std.	24 Std.	63 Std.	76 Std.
1	Kalb	Rohrzucker 7%ig (Kontrolle)	21,0	21,00	21,00	20,80	20,60
2	Kalb	1%ige Milchsäure (in isotonischem Rohrzucker)	21,8	31,05	31,70	30,90	30,80
3	Rind	10%ige Milchsäure (in isotonischem Rohrzucker)	41,0	60,90	59,50	60,40	59,80
4	Kalb	Salzsäure (n/100-Lösung)	22,0	31,15	31,60	31,90	32,15

Nur zu Zwecken der Orientierung und Kontrolle der analogen Experimente Bauers machten wir Experimente mit denselben Flüssigkeiten auch an Rindsmark.

Experiment 34.

Das Rindsmark entnahmen wir von Rindern, die vor 24 Stunden geschlachtet worden waren, und schnitten es in Stückchen von ungefähr gleichen Dimensionen, ohne die Meningen zu entfernen; wir tauchten die Stückchen in die verschiedenen Flüssigkeiten ein, indem wir sie an einem am Propfen befestigten Faden darin schwimmen ließen.

Bei den in aufeinanderfolgenden Tempos vorgenommenen Wiegungen erhielten wir die folgende Werte (siehe Tabelle E):

Tabelle E.

Nr.	Flüssigkeit	Ursprüngliches Gewicht g	Aufeinanderfolgende Gewichte in Gramm nach 16 Std.	40 Std.	48 Std.	64 Std.	72 Std.
1	Steriles Wasser	2,43	4,00	4,30	4,40	4,60	4,55
2	7%iger Rohrzucker (isotonisch)	2,92	3,80	4,30	4,30	4,40	4,50
3	1%ige Milchsäure (in Rohrzucker)	2,35	2,95	2,95	3,00	3,00	3,05
4	10%ige Milchsäure (in Rohrzucker)	2,65	3,90	4,05	4,17	4,25	4,30
5	10%iges Zinkchlorid in H_2O	1,60	1,60	1,50	1,50	1,45	1,45

Nach einem Blick auf die Gesamtheit der hier angegebenen Daten möchte es scheinen, als ob die größere Quellung durch Wasser und durch die isotonische Rohrzuckerlösung verursacht wird, wenigstens was die durch die verdünntere Säure ergebene betrifft, aber in Anbetracht seines Charakters als orien-

tierender Versuch halten wir uns nicht für berechtigt, aus diesem Experiment endgültige Schlußfolgerungen zu ziehen.

Schlußfolgerungen.

Wir glauben, daß, auch nicht auf Grund unserer Experimente, ohne weiteres ausgeschlossen werden kann, daß in bestimmten Fällen auch in vivo durch Einwirkung des von Fischer angenommenen Mechanismus Ödeme eintreten können. Aber unsere Untersuchungen — wie auch die von Marchand, Gilbert, Moore, Beutner und Bauer — sprechen gewiß nicht zugunsten der Hypothese, daß der Mechanismus des Ödems bei den Tieren und speziell bei den lebenden Säugetieren im allgemeinen ein derartiger ist. Wir müssen also einstweilen annehmen, daß die Kolloidlehre Fischers, soweit sie die lebenden Organismen betrifft, nicht auf festen experimentellen Grundlagen beruht. Und so erhebt sich auch der Unterschied zwischen lebenden Geweben und toten Geweben, die Fischer in seinem bequemen Optimismus für immer niedergerissen zu haben glaubte, fester und rätselhafter als vorher; so tritt wieder einmal an die Stelle einer glänzenden Hypothese — weniger verlockend, aber sicherer — die Konstatierung unserer Unwissenheit, die Bestätigung der Tatsache, daß das wichtige Problem noch seiner Lösung harrt.

Wenn die bis jetzt angestellten Versuche uns auch gestattet haben, uns über den Wert zu orientieren, den die auf die Entstehung der akuten Hirnschwellung angewendete Fischersche Lehre haben könnte, so stehen wir hier doch noch immer vor einem Problem voll unbekannter Größen. Da wir wie Reinhardt, Bauer, Vogt, Liesegang überzeugt sind, daß von den zur Erklärung der Erscheinung angeführten verschiedenen Hypothesen die am meisten versprechende die ist, die sie als einen physikalisch-chemischen Vorgang erhöhter Affinität des Nervengewebes zum zirkulierenden Wasser erklärt, sollen unsere Untersuchungen von nun an das Ziel verfolgen, jene Bedingungen experimentell im Nervengewebe sowohl in vitro als auch, wenn es möglich ist, in vivo hervorzurufen.

Die chemischen und physikalisch-chemischen Reaktionen zwischen Gehirn und Hormonen, Gehirn und Toxin und verschiedenen Autointoxikationsprodukten eröffnen uns ein weites Gebiet für unsere Studien.

Über einige Phosphatide aus der menschlichen Placenta.

I. Mitteilung.

Von

C. Sakaki.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Kiushu.)

(Eingegangen am 4. Februar 1913.)

Die Placenta ist ein wichtiges Ernährungsorgan des Foetus. Ihr Glykogengehalt steht in enger Beziehung zum Entwicklungszustande der Leber des Foetus, und zwar ist nach Loched und Cramer[1]) der Glykogengehalt der Placenta um so geringer, je entwickelter die Leber ist. Von den verschiedenen Organen des Foetus bzw. des neugeborenen Kindes entwickelt sich Gehirn und Leber am günstigsten. Während das Gewicht des foetalen Gehirns 14 bis 15 $^0/_0$[2]) des ganzen Körpergewichts ausmacht, daß des Neugeborenen ca. 12,29 $^0/_0$ und das Gewicht der Leber 4,57 $^0/_0$, beträgt das Gewicht des Gehirns eines Erwachsenen nur 2,16 $^0/_0$ und das der Leber 2,75 $^0/_0$ vom Gesamtgewicht[3]).

Es ergibt sich also folgendes Verhältnis:

Gehirn des neugeborenen Kindes : Gehirn des Erwachsenen: 12,29 : 2,16 = 5 · 7; Leber des Neugeboren : Leber des Erwachsenen: 4,57 : 2,75 = 1 · 65. Man kann also sagen, daß das Gehirn des Foetus relativ fast 6 mal und seine Leber 2 mal so groß ist als die entsprechenden Organe des Erwachsenen.

Zwischen der Placenta und der Leber des Foetus kann vielleicht schon in bezug auf ihren Glykogengehalt eine Beziehung vorhanden sein. So kommt man zu dem neuen, aber

---

1) Loched und Cramer, Proc. Roy. Soc. 80 B, 1908. — Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chem., 7. Aufl., S. 606.

2) Bibra, Monographie im Jahre 1854. — Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns der Menschen und der Tiere. 1901.

3) H. Vierordt, Daten und Tabellen für Mediziner. 3. Aufl.

sehr interessanten Problem: Welche Beziehung ist zwischen der Placenta und dem Gehirn, das sich im foetalen Leben seiner Größe und seinem Gewicht nach kolossal entwickelt, vorhanden?

Um diese Frage zu lösen, habe ich verschiedene Untersuchungen im Physiologisch-chemischen Institut der Universität Kiushu gemacht, und ich spreche hiermit Herrn Prof. Goto, der sich immer für meine Arbeit interessierte und mir mit seinem freundlichen Rate zur Seite gestanden hat, meinen herzlichsten Dank aus.

Die erste chemische Tatsache, die durch Untersuchungen der Hirnsubstanz ermittelt wurde, ist wohl das Vorhandensein des Phosphors gewesen. Sie wurde von einem Doktoranden, Joh. Th. Hensing, entdeckt, seitdem haben viele Autoren zahllose chemische Untersuchungen der Gehirnsubstanz gemacht, und man fand endlich in ihr verschiedene Phosphatide.

Thudichum[1]) teilt die Phosphatide des Gehirns nach ihrem Phosphorstickstoffverhältnis in 5 Gruppen.

Ich habe nun in dieser meiner Arbeit die Phosphatide der Placenta mit denen des Gehirns genau verglichen. Ich habe ca. 105 vollkommen frische Mutterkuchen gesammelt, von denen ich die Nabelschnur, die Eihäute sowie die Blutgefäße entfernte, und wandte nun meine besondere Aufmerksamkeit dem Drüsenteil zu. Ich zerstückelte letzteren mit einem Wiegemesser.

Unter Benutzung eines feinen Siebes und physiologischer Kochsalzlösung wusch ich die Stücke sodann so lange, bis sie völlig von Blut befreit waren, und entfernte das Wasser durch Auspressen. Diese Masse zerstückelte ich von neuem mit dem Wiegewesser. Das Gewicht der Masse beträgt ca. 25 kg.

Je 100 g Placenta wurden nun in einem Kolben mit Rückflußkühler mit 160 ccm 96⁰/₀igem Alkohol etwa 12 Stunden lang auf dem Wasserbade bei 60⁰ extrahiert. Von Zeit zu Zeit wurde kräftig umgeschüttelt. Ich kolierte die noch warme Masse. Die auf dem Tuch zurückgebliebene Masse pulverisierte ich zunächst, dann extrahierte ich sie mit 82⁰/₀igem Alkohol in der oben beschriebenen Weise, worauf ich sie wieder kolierte.

Die Filtrate vermischte ich miteinander und erwärmte das Gemisch bis zu etwa 60⁰, filtrierte und kühlte das Filtrat auf ca. 3⁰ ab. Nach etwa 24 Stunden war ein weißer Niederschlag

[1]) Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns der Menschen und der Tiere. 1901.

in ziemlich großen Mengen zu bemerken, den ich abfiltrierte. Das Filtrat verwahrte ich zu dem untenbeschriebenen Zwecke, und zwar in einem luftdichten und lichtunzugänglichen Raum. Mit dem weißen Rückstand nahm ich folgende Behandlung vor.

A. Reinigungsmethode der weißen Substanz.

Der weiße Niederschlag wurde in $96^0/_0$igem Alkohol bei 45^0 aufgelöst. Diese warme alkoholische Lösung filtrierte ich sofort und stellte das Filtrat eine Zeitlang in die Eiskammer, worauf ein weißer, flockiger Niederschlag ausfiel. Ich sammelte den Niederschlag auf einem Filter und wusch ihn anfangs mit Alkohol, dann mit Äther so lange aus, bis die Waschflüssigkeit vollständig farblos wurde. Den ausgewaschenen Niederschlag löste ich abermals in warmem Alkohol und wiederholte das oben beschriebene Verfahren einige Male. Auf diese Weise erhielt ich endlich eine ganz schneeweiße Substanz, die ich im Vakuum trocknete.

Eigenschaft und Zusammensetzung der Substanz.

Die Substanz stellte ein leichtes und schneeweißes Pulver dar, das ich bei Zimmertemperatur in Chloroform und Benzol löste. In Alkohol, Äther, Methylalkohol, Amylalkohol, Schwefelkohlenstoff, Petroläther und Aceton löst sie sich indes nicht, dagegen bei leichter Erwärmung in Alkohol, Äther, Methylalkohol und Amylalkohol. Bei Abkühlung fällt aber die Substanz aus der Lösung wieder aus. Ist die alkoholische Lösung in diesem Falle dünn, so zeigen sich Flocken; ist sie dick, so wird man einen käsigen Niederschlag bemerken. Der Niederschlag besteht aus winzig kleinen weißen Krystallnadeln, die allerdings nur bei 450 facher Vergrößerung erkennbar sind.

In Wasser quillt die Substanz anfangs zu Leim auf, und dann entsteht allmählich eine weiße Emulsion, die Fehlingsche Lösung nicht reduziert, selbst wenn man die Emulsion vorher mit verdünnter Säure kocht. Diese getrocknete Substanz beginnt sich bei langsamer Erwärmung von 70^0 zu verändern, bei 100^0 verändert sie sich allmählich innerhalb einer Zeit von 10 Stunden. Nach Ablauf dieser Zeit schmilzt die Substanz zusammen und verwandelt sich in eine braune Masse, die man nicht pulverisieren kann. Da die Wärme eine Ver-

änderung der Substanz bewirkte, konnte der Schmelzpunkt nicht festgestellt werden.

In einer alkoholischen Lösung verbindet sich die Substanz mit Chlorcadmium oder ammoniakalischem Bleizucker.

Erhitzt man die Substanz ein wenig auf Platinblech, so verbrennt sie mit heftiger Rußentwicklung, wobei ein eigentümlicher Geruch entsteht. Die Substanz zersetzt sich vollständig unter Hinterlassung einer ganz kleinen Menge weißer Asche.

Sie zeigt folgende Reaktionen:

1. Beim Erhitzen mit geglühtem Natronkalk wird Ammoniak entwickelt.

2. Nach dem Schmelzen mit Salpetermischung gibt die Substanz mit molybdänsaurem Ammon einen reichlichen Phosphorsäureniederschlag.

3. Sie entwickelt beim Erhitzen mit saurem schwefelsaurem Kali Acrolein, das durch den Geruch und durch Schwärzung eines mit ammoniakalischer Silberlösung getränkten Papierstreifens nachgewiesen wurde.

4. Zur Hydrolyse des Sphingomyelins verfährt Thudichum[1]) folgendermaßen:

Er mischt das Sphingomyelin mit krystallisiertem Barythydrat und Wasser im Verhältnis von 1 : 2 : 4 und erhitzt dieses Gemisch auf 100 bis 105°, indem er es mehrere Stunden in einem Platinrohr beläßt.

Nach dieser Methode arbeitete ich und leitete in das heiße Filtrat Kohlensäure ein.

Das Filtrat wurde verdunstet und der Sirup mit absolutem Alkohol extrahiert. So erhielt ich zwei Substanzen, von denen die eine in Alkohol löslich war.

a) Der in Alkohol nicht lösliche Teil wurde mit Alkohol so lange gewaschen, bis die Waschflüssigkeit ganz farblos war, und ergab ebenfalls die Reaktionen 2 und 3.

b) Das Filtrat versetzte ich so lange mit alkoholischer Platinchloridlösung, bis ein Niederschlag entstand. Den hellgelben Niederschlag wusch ich mit Alkohol, dann mit Äther, und krystallisierte ihn mehrere Male aus wenig Wasser um. Die Krystalle waren hauptsächlich lange flache Nadeln, zwischen

[1]) Thudichum, l. c.

denen sich viele kleine Oktaeder befanden. Beim Erhitzen entwickelt sich der dem Trimethylamin eigentümliche Geruch, und beim Veraschen bleibt ca. 32 % Platin zurück.

5. 2 g der Substanz wurden mit 100 ccm alkoholischer Kalilauge verseift. Das kalte, klare Filtrat wurde nach Zusatz von Salzsäure mit Äther extrahiert. Diese Lösung wusch ich so lange mit Wasser, bis die Waschflüssigkeit ganz neutral blieb, dampfte den Äther ab und löste den zurückgebliebenen Rückstand in Ätheralkohol auf. Zur Neutralisierung der Lösung verwendete ich ca. 11 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge und benutzte hierbei Rosolsäure als Indicator. Aus den oben beschriebenen Eigenschaften und Reaktionen geht hervor, daß die Substanz Stickstoff, Kohlenstoff und Phosphor enthält, sowie als Spaltungsprodukte Glycerin, Fettsäure und eine Base (Cholin?).

Quantitative Analyse.

Vor der Analyse trocknete ich die Substanz im Vakuum bei 55° bis zur Gewichtskonstanz.

Erstes Präparat:

0,1268 g liefern 0,3084 g CO_2 und 0,1282 g H_2O = 66,33 % C und 11,31 % H
0,1737 „ „ 0,4220 „ CO_2 „ 0,1766 „ H_2O = 66,25 „ C „ 11,38 „ H
0,2088 „ „ 0,5076 „ CO_2 = 66,30 „ C
0,1910 „ „ 4,7 ccm N bei 12,9° und 770,5 mm Barometerstand = 2,936 % N
0,4882 „ „ 12,25 „ N „ 14,4° „ 769,2 „ „ = 2,960 „ N
0,7044 „ „ 0,0801 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,236 % P
0,8911 „ „ 0,0990 „ $Mg_2P_2O_7$ = 3,092 „ P

Zweites Präparat:

0,1200 g liefern 3,2 ccm N bei 28,4° und 762,0 mm Barometerstand = 2,914 % N
0,1305 „ „ 3,5 „ N „ 27,9° „ 760,0 „ „ = 2,931 „ N
0,8017 „ „ 0,09195 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,203 % P

Die mittleren Werte aus diesen Zahlen sind:

Analysen-Nr.	Präparat	C %	H %	N %	P %	(O) %
1	I	66,33	11,31	—	—	—
2	„	66,25	11,38	—	—	—
3	„	66,30	—	—	—	—
4	„	66,15	11,37	—	—	—
5	„	—	—	2,936	—	—
6	„	—	—	2,960	—	—
7	„	—	—	—	3,236	—
8	„	—	—	—	3,092	—
9	II	—	—	2,914	—	—
10	„	—	—	2,931	—	—
11	„	—	—	—	3,203	—
Durchschnitt:		66,258	11,350	2,935	3,177	(16,28)

Das Resultat der Analyse stimmt mit der folgenden chemischen Formel $C_{54}H_{111}N_2PO_{10}$ überein.

	Umgerechnet für $C_{54}H_{111}N_2PO_{10}$ %	Gefunden %	Atomzahl (P = 1)
C	66,270	66,258	53,880
H	11,350	11,350	110,700
N	2,844	2,935	2,050
P	3,171	3,177	1,000
(O)	16,360	16,280	9,926

Das Resultat der Analyse ergibt ein Phosphor-Stickstoffverhältnis von 1:2, weswegen man annehmen könnte, daß diese Substanz ein Diaminomonophosphatid ist.

Es gibt verschiedene Arten Diaminomonophosphatide[1]), zuerst hat Thudichum im menschlichen Gehirn Apomyelin gefunden, dann im Ochsengehirn Sphingomyelin und Amidomyelin, und er meint, daß die Substanzen Apomyelin und Sphingomyelin sehr nahe verwandt, ja vielleicht identisch sind. Hammarsten hat Diaminophosphatid aus Eisbärengalle, Erlandsen auch aus den Herzmuskeln und Schenkelmuskeln des Ochsen erhalten, Stern und Thierfelder[2]) gewannen die Substanz später aus Eigelb.

Alle diese Verbindungen stimmen nicht untereinander überein; dem schließt sich meine Substanz an.

Sie ähnelt in mancher Beziehung sehr den von Stern und Thierfelder gewonnenen Präparaten, indes steht sie analytisch der Substanz von Thudichum näher.

Analysen von Apomyelin und Sphingomyelin.

	Mein Präparat %	Sphyngomyelin %	Apomyelin %	Stern-Thierfelder-sches Präparat %
C	66,258	65,37	67,10	68,13
H	11,350	11,29	11,35	12,14
N	2,935	2,96	3,00	3,77
P	3,177	3,24	3,23	3,22
(O)	16,280	17,14	14,69	—

[1]) Hoppe-Seyler und Thierfelder, Handb. d. chem. Analyse. 8. Aufl.

[2]) Stern und Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 1907.

Reinigungsmethode der honigartigen Substanz.

Das Filtrat der vorher erwähnten weißen Substanz, das ich in einem luftdichten, lichtunzugänglichen Raum aufbewahrte, wurde bei 60° abgedampft und der Sirup mit Äther extrahiert. Bei Zusatz von Aceton zu dem konzentrierten Ätherextrakt im Verhältnis von 1 : 3 entstand ein bräunlicher honigartiger Niederschlag. Nimmt man eine um 5° niedrigere Temperatur, so entstehen folgende Substanzen:

1. Die Hauptsubstanz, ein bräunlicher honigartiger Bodenniederschlag.
2. Eine die Hauptsubstanz bedeckende weiße käsige Masse.
3. Lange, weiße Krystallnadeln, die sternförmig an der Gefäßwand verteilt sind (wegen ihres geringen Vorkommens habe ich die Krystalle nicht näher untersucht).

Ich goß das Aceton ab, wusch die Substanzen 2 und 3 mit frischem Aceton und löste die erste Substanz wiederum in Äther; beim Stehen der Ätherlösung entstand ein Niederschlag. Nachdem er sich vollständig abgesetzt hatte, filtrierte ich die Ätherlösung und fügte Aceton hinzu. Man erhält wiederum eine braune honigartige Substanz, die in Äther gut löslich ist. Diese bezeichne ich als Substanz B, während ich die andere, in Äther nicht lösliche, von der ich einen Vorrat gesammelt habe, mit Substanz C bezeichne.

Eigenschaften und elementare Zusammensetzung der Substanz B.

Diese Substanz ist stark hygroskopiesch und färbt sich dunkel. Trocknet man diese Substanz im Vakuum, so verliert sie ihre honigartige Eigenschaft und ist leicht zu pulverisieren. Das Pulver hat eine bräunlich-gelbe Farbe. Die Substanz ist in Chloroform leicht löslich. Beim Zusatz von absolutem Alkohol entsteht ein bräunlich-gelber Niederschlag, der in Wasser leicht löslich ist.

Die frische Substanz ist in Äther leicht löslich, während die trockene ältere Substanz nur in wasserhaltigem Äther gelöst werden kann. Außerdem ist die Substanz in Schwefelkohlenstoff nnd Petroläther leicht löslich, jedoch in Alkohol, Amylalkohol und Methylalkohol nur teilweise. In Wasser quillt die Substanz auf, wird leimig, und schließlich entsteht eine

braune, etwas trübe Lösung. Diese wässerige Lösung erhält durch Zusatz von verdünnter Salzsäure eine starke Trübung. Die Substanz reduziert Fehlingsche Lösung nicht, selbst wenn man sie einige Stunden lang mit verdünnter Schwefelsäure kochen läßt. Beim Erhitzen auf dem Platinblech verkohlte die Substanz unter Zurücklassung von etwas Asche. Die qualitative Analyse erwies das Vorhandensein von Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel, Phosphor und Natrium, und es scheint, als ob der Kohlenstoff und der Wasserstoff zum Teil als Glycerin darin enthalten sind (Acroleinprobe positiv). So zusammengesetzte Substanzen, die in Äther und Wasser leicht, dagegen in Alkohol nicht löslich sind, sind als Jecorin zu betrachten.

Es war Drechsel[1]), der Substanzen von diesem Typ zuerst entdeckte. Bemerkenswert war an seinem Jecorin, daß es Fehlingsche Lösung reduzierte. Setzte man der wässerigen Lösung Salzsäure zu, so entstand ein Niederschlag. Später machte Baldi[2]) die Entdeckung, daß die wässerige Lösung des reinen Jecorins durch Salzsäure nicht getrübt wird und daß die Substanz in fast allen Tierkörpern weit verbreitet ist.

Indessen hat Manasse[3]) 1895 nach der Drechselschen Methode eine Substanz aus den Nebennieren dargestellt, deren Elemente zwar dem Jecorin entsprechen, aber Fehlingsche Lösung nicht reduzieren, weswegen er behauptete, daß die Nebennieren jecorinfreie Organe seien. Letsche[4]) erhielt aus dem Blute Jecorin auf folgende Weise: Er setzte dem Ätherextrakt des Blutes Aceton zu. Nachdem er nun auf diesem Wege das Cholesterin entfernt hat, wandte er die Drechselsche Methode an; obwohl die von mir gewonnene Substanz noch unrein war, entsprach sie dem Letscheschen Jecorin, und obschon sie nun mit diesem nicht verglichen werden konnte, ließen verschiedene Eigenschaften, wie das Nichtvorhandensein einer reduzierenden Substanz, darauf schließen, daß es sich um die gleiche Substanz, wie die von Manasse in den Nebennieren entdeckte, handelte (Nebennieren-Jecorin).

Reinigungsmethode der Substanz C.

Den mit Substanz C bezeichneten bei der Reinigung der Substanz B übrig gebliebenen und in Äther nicht löslichen Teil löste ich in $96^0/_0$igem Alkohol bei 45^0. Die so erhaltene

[1]) Drechsel, Journ. f. prakt. Chem., N. F. 33, 425. — Zeitschr. f. Biol. 33, 85, 1896.

[2]) D. Baldi, Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt., 1887, Suppl. Bd. S. 100.

[3]) P. Manasse, Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 478, 1895.

[4]) F. Letsche, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 108.

warme alkoholische Lösung filtrierte ich. Beim Erkalten entstand ein weißer käsiger Niederschlag.

Dieses Verfahren wiederholte ich einige Male und erhielt ganz schneeweiße winzigkleine Krystallnadeln, die genau dasselbe Aussehen hatten wie die Substanz A selbst, und die auch in Chloroform leicht löslich waren. Ebenso wie die Substanz A löste sich diese bei Zimmertemperatur in Äther nicht, dagegen war dies der Fall, wenn man den Äther ein bißchen erwärmte. Die anderen physikalischen und chemischen Eigenschaften dieser Substanz dürften dieselben wie die der Substanz A sein.

Zusammenfassung.

Substanz A. In bezug auf ihre Darstellungsmethode entspricht die Substanz A dem von Stern und Thierfelder aus Eigelb dargestellten Diaminomonophosphatide. Die analytischen Daten stehen jedoch in der Mitte zwischen den von Thudichum mit Apomyelin und Sphingomyelin gewonnenen Zahlen, obschon die Darstellungsmethoden der beiden letzteren Substanzen voneinander ganz verschieden sind.

Substanz B. Obgleich dieselbe noch unrein ist, entspricht ihre Darstellungsmethode der von Letsche beim Jecorin angewendeten. Erwägt man, daß die Substanz die dem Jecorin eigentümliche Reduktionskraft nicht besitzt, so ist man geneigt zu glauben, daß die Placenta, die das Ausgangsmaterial der Substanz ist, ebenso wie die Nebennieren kein Jecorin enthält. Auf Grund obenerwähnter Tatsachen komme ich zu folgendem Schluß. Nach den Untersuchungen von Bibra liefert das fötale Gehirn im Uterus nur sehr wenig Ätherextrakt und wenig Phrenosinsubstanz. Indessen scheint es sicher, daß im Mutterkuchen, dem wichtigen Ernährungsorgan des Foetus, die Phosphatide eine nicht unbedeutende Rolle spielen.

Über einige Phosphatide aus der menschlichen Placenta.

II. Mitteilung.

Von

C. Sakaki.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Kiūshu.)

(Eingegangen am 4. Februar 1913.)

Ich habe bereits mitgeteilt, daß ich im warmen alkoholischen Extrakt der Placenta außer dem Diaminomonophosphatid ein anderes schwefel- und natriumhaltiges Phosphatid aufgefunden habe. Ferner machte ich damals auf folgendes aufmerksam: Auf das letzterwähnte Phosphatid wandte ich die Drechselsche Jecorin-Reinigungsmethode nicht an, sondern ich reinigte es nur unter Zuhilfenahme von Äther und Aceton. Der Substanz fehlte die Reduzierkraft, deren Nichtvorhandensein auf das Vorkommen einer Substanz, wie die von Manasse in den Nebennieren entdeckte, schließen läßt. Nun ist es aber fraglich, ob Jecorin eine einheitliche Verbindung ist, oder nicht. Um festzustellen, ob diese Substanz wirklich vorhanden ist, extrahierte ich die Placenta mit warmem Alkohol und erhielt so die oben erwähnten Phosphatide. Diese löste ich in Äther und fällte sie durch Aceton aus der Ätherlösung. Ich wiederholte dieses Verfahren 5 bis 6 mal und entfernte die in Äther unlösliche, sowie die in Aceton lösliche Substanz. Vor der Analyse trocknete ich die Substanz im Vakuum bei 55°. Den Schwefel bestimmte ich als schwefelsaures Barium. Das Natrium bestimmte ich als Natriumchlorid. Kohlenstoff und Wasserstoff wurden elementar-analytisch, Stickstoff maßanalytisch bestimmt. Der Phosphor wurde als phosphorsaure Ammoniakmagnesia bestimmt. Die Analyse eines Teiles dieser Substanz ergab folgendes Resultat.

0,1978 g	Substanz liefert	0,4446 g CO_2 und 0,1640 g H_2O = 61,3 % C und 9,278 % H
0,1226 „	„ „	0,2740 „ „ „ 0,1016 „ „ = 60,95 „ „ „ 9,273 „ „
0,3326 „	„ „	5,6 ccm N bei 18,3° C und 769,8 mm Barometerstand = 1,958 % N
0,3060 „	„ „	5,1 „ „ „ 17,7° „ „ 766,8 „ „ = 1,981 „ „
0,8006 „	„ „	0,1262 g $Mg_2P_2O_7$ = 4,402 % P
0,3675 „	„ „	0,05865 „ „ = 4,429 „ „
0,4794 „	„ „	0,0076 „ $BaSO_4$ = 0,2148 „ S
0,8650 „	„ „	0,0134 „ „ = 0,21275 „ „
0,8280 „	„ „	0,0410 „ NaCl = 1,9475 „ Na
1,0368 „	„ „	0,0510 „ „ = 1,9358 „ „

Aus obigen Zahlen erhielt ich folgende Durchschnittszahlen.

Nr.	C %	H %	N %	P %	S %	Na %
1	61,3	9,278	—	—	—	—
2	60,95	9,273	—	—	—	—
3	—	—	1,958	—	—	—
4	—	—	1,981	—	—	—
5	—	—	—	4,402	—	—
6	—	—	—	4,429	—	—
7	—	—	—	—	0,2148	—
8	—	—	—	—	0,21275	—
9	—	—	—	—	—	1,9358
10	—	—	—	—	—	1,9475
Durchschnitt:	61,125	9,276	1,9695	4,416	0,2138	1,9417

Ich wende mich nun dem anderen Teile der Substanz zu. Diesen reinigte ich nach der Drechselschen[1]) Jecorin-Reinigungsmethode. Die ätheralkoholische Mutterlauge wurde mit Platinchlorid gefällt, solange noch ein Niederschlag entstand. Die entstandene Substanz wusch ich gründlich mit absolutem Alkohol und trocknete sie im Vakuum.

Eigenschaften.

1. Die Substanz ist eine leichte bräunlichgelbe, poröse, erdige Masse. Sie ist sehr hygroskopisch.

2. Sie nimmt selbst in einem zum Teil evakuiierten Exsiccator (unter niedrigem partiellen Sauerstoffdruck) langsam an Gewicht zu, wie folgende Zusammenstellung zeigt.

Am	10. April	1912	wog	die	Substanz	1,6 g
„	18. Mai	„	„	„	„	1,613 „
„	18. Juni	„	„	„	„	1,638 „
„	13. Juli	„	„	„	„	1,6436 „

[1]) Drechsel, Journ. f. praktische Chem., N. F. 33, 425; Zeitschr. f. Biol. 33, 85, 1896.

Innerhalb eines Zeitraumes von 80 Tagen hatte sich das Gewicht der Substanz wie folgt vermehrt:

$$\frac{0{,}0436}{1{,}6} \times 100 = 2{,}73\,^0/_0.$$

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß, ähnlich wie dies beim Lecithin zu beobachten ist, eine Autooxydation vorliegt.

3. Die Substanz ist ebenso wie Manasses[1]) Nebennierensubstanz in Äther leicht löslich. Dies ist nach einem Monat des Trocknens noch der Fall, und nur nach Ablauf mehrerer Monate ist sie nur in wasserhaltigem Äther löslich.

4. Im Wasser löst sich die Substanz nach vorherigem Aufquellen zu einer bräunlich gefärbten, ganz klaren Lösung, die sich bei Zusatz von Salzsäure, wenn auch nur minimal, trübt.

5. Diese Substanz reduziert Fehlingsche Lösung nicht, selbst wenn man sie vorher mit $2{,}5\,^0/_0$iger Schwefelsäure auf 100^0 erhitzt.

6. Bei Hinzufügung von Silbernitrat erhält die Lösung eine weißliche Trübung, die, wenn man ihr Ammoniak zusetzt, verschwindet. Kocht man sie, so erhält sie eine schmutzige blaßrote Färbung, während das von Baldi[2]) gewonnene Jecorin eine bordeauxrote Färbung aufwies.

7. Setzt man einer ätherischen oder einer wässerigen Lösung der Substanz auch Platinchlorid oder Cadmiumchlorid zu, so entsteht dennoch kein Niederschlag. Bei Zusatz von Bleizucker bildet sich ein graubrauner flockiger Niederschlag.

Quantitative Analyse.

Die quantitative Analyse ergab folgendes Resultat:

0,1582 g	Substanz	liefert	0,3196 g CO_2 und 0,1190 g H_2O	= 55,08 % C und 8,402 % H
0,2710 „	„	„	0,5484 „ „ „ 0,1996 „ „	= 55,18 „ „ „ 8,240 „ „
0,2335 „	„	„	0,4726 „ „ „ 0,1738 „ „	= 55,18 „ „ „ 8,326 „ „
0,3556 „	„	„	8,4 ccm N bei 14,0° C und 769,2 mm Barometerstand	= 2,8 % N
0,2664 „	„	„	6,27 „ „ „ 14,3° „ „ 767,2 „ „	= 2,778 „ „
0,5790 „	„	„	0,0851 g $Mg_2P_2O_7$	= 4,087 % P
0,7469 „	„	„	0,1108 „ „	= 4,130 „ „
0,3485 „	„	„	0,0206 „ $BaSO_4$	= 0,8146 „ S
0,5390 „	„	„	0,0052 „ NaCl	= 0,380 „ Na

[1]) P. Manasse, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**, 478, 1895.

[2]) D. Baldi, Arch. f. Anatomie u. Physiol., physiol. Abt. 1887, Supplementband 100.

Nachstehend die Durchschnittszahlen der Resultate:

Nr.	C %	H %	N %	P %	S %	Na %
1	55,08	8,402	—	—	—	—
2	55,18	8,240	—	—	—	—
3	55,18	8,326	—	—	—	—
4	—	—	2,800	—	—	—
5	—	—	2,778	—	—	—
6	—	—	—	4,087	—	—
7	—	—	—	4,130	—	—
8	—	—	—	—	0,8146	—
9	—	—	—	—	—	0,3801
Durchschnitt:	55,147	8,323	2,789	4,109	0,8146	0,3801

Nach diesen Resultaten zu urteilen, handelt es sich hier vielleicht um ein Phosphatid ähnlich dem, das Manasse aus den Nebennieren gewann.

Die Meinungen der Autoren über Jecorin gehen sehr auseinander. Während Drechsel und Baldi die Substanz als einheitlich bezeichnen, bei der das Vorhandensein eines Reduktionsvermögens auffallend ist, steht nach P. Mayer[1]) die Substanz den Lecithinen nahe. Meinertz[2]) betrachtet das Jecorin als eine gemischte Substanz, deren Reduzierkraft aber nicht als Eigentümlichkeit aufzufassen ist. Siegfried und Mark[3]) fraktionierten die Substanz und schlossen aus der Verschiedenheit jeder Fraktion, daß das Jecorin keine einheitliche Substanz sei.

Bei der von mir untersuchten Substanz war bemerkenswert, daß in einem gereinigten Teile der Muttersubstanz der Schwefel um das 4fache stieg und die Quantität des Natriums um $^4/_5$ abnahm.

$$\text{Muttersubstanz}\begin{cases}\text{S} = 0{,}2138\,\%\\ \text{Na} = 1{,}9417\,\%\end{cases}$$

$$\text{Gereinigte Substanz}\begin{cases}\text{S} = 0{,}8146\,\%\\ \text{Na} = 0{,}3801\,\%\end{cases}$$

$$\frac{0{,}8146\ (\%\ \text{S d. gereinigten Subst.})}{0{,}2138\ (\%\ \text{S d. Muttersubst.})} = 3{,}8;$$

$$\frac{0{,}3801\ (\%\ \text{Na d. gereinigten Subst.})}{1{,}9417\ (\%\ \text{Na d. Muttersubst.})} = 0{,}196.$$

Ob diese Erscheinung darauf zurückzuführen ist, daß das Jecorin, wie Bang[4]) meint, vielleicht kein Na-Salz darstellt, oder darauf, daß, wie Bing[5]) und P. Mayer[6]) behaupten, in

1) Paul Mayer, diese Zeitschr. 1, 92.
2) J. Meinertz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 376.
3) M. Siegfried und H. Mark, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 492.
4) I. Bang, Chemie und Biochemie der Lipoide, Wiesbaden 1911.
5) Bing, Skandinavisches Arch. f. Physiol. 9, 336, 1899.
6) l. c.

der Muttersubstanz Lecithin vorhanden ist, das Natrium enthält, läßt sich nicht feststellen.

Wie ich mich durch Einsicht in die Literatur überzeugt habe, scheinen die meisten Autoren den Jecorinverbindungen keine besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden. Meines Erachtens nach wäre der einfachste Weg der Feststellung, ob das Jecorin eine einheitliche Substanz ist oder ein Gemisch, die Erforschung der verschiedenen Jecorinverbindungen. Ich werde im folgenden eine von mir untersuchte Bleiverbindung der Placentasubstanz beschreiben.

Bleiverbindung der Placentasubstanz.

Darstellungsmethode.

Der wässerigen Lösung der Substanz setzt man eine ammoniakalische Bleizuckerlösung zu, worauf ein bräunlicher käsiger Niederschlag entsteht. Beim Zusetzen der Bleizuckerlösung muß vorsichtig verfahren und ein Überschuß des Bleizuckers vermieden werden.

Nachdem man nun die Substanz einige Male umgerührt hat, läßt man sie eine Zeitlang stehen, hierauf dekantiert man die Mutterlauge und wäscht mehrere Male mit Wasser. Dann kocht man die Substanz in Alkohol und filtriert sie warm. Das Filter wäscht man so lange mit heißem Alkohol, bis die Waschflüssigkeit ganz farblos wird. Bei Verwendung von Äther zum selben Zwecke wandte ich das gleiche Verfahren an. Schließlich wird die Substanz im Vakuum getrocknet.

Eigenschaften und Zusammensetzung.

1. Die Substanz stellt eine braune, feste, aber leicht pulverisierbare Masse dar, die beim Trocknen stark einschrumpft. Sie ist in Wasser, Alkohol und Äther unlöslich.

2. Das Vorhandensein von Stickstoff wurde mit Natronkalk, von Phosphor mit Ammoniummolybdat nach vorhergehender Schmelze mit Salpetermischung nachgewiesen.

4. Schwefel und Natrium waren in der Substanz nicht nachzuweisen.

5. Acrolein konnte nach Erhitzen mit Kaliumbisulfat durch den Geruch und Schwärzung eines mit ammoniakalischer Silberlösung getränkten Papierstreifens identifiziert werden.

Quantitative Analyse.

Das Blei wurde als Schwefelblei bestimmt, die anderen Elemente waren dieselben wie die vorherbeschriebenen, und die Analyse ergab folgendes Resultat:

0,3834 g	Substanz	liefert	0,3508 g CO_2	und 0,1148 g H_2O	= 24,96 % C
0,2872 „	„	„	0,3632 „ „	„ 0,0886 „ „	= 25,00 „ „
0,2768 „	„	„	0,2530 „ „	„ 0,0854 „ „	= 24,92 „ „
0,2092 „	„	„	0,1920 „ „	„ 0,0666 „ „	= 25,03 „ „
0,5242 „	„	„	4,9 ccm N bei 25,8°	und 755,6 mm Barometerstand	= 1,027 % N
0,5406 „	„	„	5,25 „ „ „ 27,9°	„ 752,8 „ „	= 1,051 „ „
0,6548 „	„	„	0,0349 g $Mg_2P_2O_7$		= 1,484 % P
0,8896 „	„	„	0,0499 „ „		= 1,563 „ „
0,6636 „	„	„	0,5014 „ $PbSO_4$		= 5,159 „ Pb
0,5880 „	„	„	0,4480 „ „		= 5,204 „ „

Man erhält daraus folgende Durchschnittszahlen:

Analysen Nr.	C %	H %	N %	P %	Pb %	(O) %
1	24,96	3,349	—	—	—	—
2	25,00	3,450	—	—	—	—
3	24,92	3,451	—	—	—	—
4	25,03	3,562	—	—	—	—
5	—	—	1,027	—	—	—
6	—	—	1,051	—	—	—
7	—	—	—	1,484	—	—
8	—	—	—	1,563	—	—
9	—	—	—	—	5,159	—
10	—	—	—	—	5,204	—
Durchschnitt:	24,98	3,453	1,037	1,524	5,182	(64,272)

Wie aus Obigem erhellt, ist das Stickstoff-Phosphor-Blei-Verhältnis dieser Substanz 3 : 2 : 1.

Betrachtet man den Phosphor als Einheit, so ist die kleinste chemische Formel für die Substanz folgende:

$$C_{85}H_{140}N_3P_2O_{163}Pb.$$

Desgleichen für Blei:

$$C_{83}H_{138}N_3P_2O_{160}Pb.$$

	Berechnet für $C_{85}H_{140}N_3P_2O_{163}Pb$ %	Berechnet für $C_{83}H_{138}N_3P_2O_{160}Pb$ %	Gefunden %	Atomzahl P = 2	Atomzahl Pb = 1
C	25,000	24,870	24,980	84,72	83,16
H	3,432	3,445	3,543	140,05	137,90
N	1,029	1,048	1,039	3,02	2,964
P	1,520	1,548	1,524	2,00	1,963
Pb	5,075	5,169	5,182	1,086	1,00
O	63,930	63,920	(64,272)	163,480	160,40

Erlandsen[1]) behauptet zwar, daß die Verbindungen mit Metallen, z. B. mit Blei, immer eine Substanzveränderung bewirken, während die alkoholische Lösung des Myelins des Gehirns nach Thudichum durch Platin- und Cadmiumchlorid nicht vermindert wird. Kein Phosphatid kann als Myelin betrachtet werden, ehe es mit Blei verbunden worden und als Bleisalz in Alkohol und Äther unlöslich befunden worden ist. Das Thudichumsche[2]) Myelinblei bildet einen weißen flockigen Niederschlag, der bei der Analyse ergibt:

C = 50,80 %	H = 7,77 %	N = 1,44 %
P = 3,28 %	Pb = 19,76 %	O = 6,75 %

Das Stickstoff-Phosphor-Blei-Verhältnis ist 1 : 1 : 1.

Das Myelin ist also ein Monoaminomonophosphatid, während die von mir festgestellte Substanz ein Triaminodiphosphatid ist. (Eine Substanz dieses Typs wurde zuerst von Fränkel[3]) aus Gehirn und aus der Niere erhalten.) Auf Grund obenerwähnter Tatsache kommt man zu folgendem Schluß:

1. Das Stickstoff-Phosphor-Verhältnis der in den Mutterkuchen enthaltenen Substanz ist 3 : 2, ihre Zusammensetzung:

C = 24,98 %	H = 3,453 %	N = 1,039 %
P = 1,524 %	O = 64,272 %	

Sie dürfte ein Phosphatid sein.

2. Die Substanz kann wie die Bleiverbindung des Myelins gereinigt werden.

3. Die aus dem alkoholischen Extrakt der Placenta gewonnene Substanz hat folgende Zusammensetzung:

C = 51,147 %	H = 8,323 %	N = 2,789 %
P = 4,109 %	S = 0,8146 %	Na = 0,3801 %

und ist dem Manasseschen[4]) „Nebennierenkörper" ähnlich. Sie ist keine einheitliche Substanz, sondern sie ist als ein Gemisch zu betrachten, das Triaminodiphosphatid enthält.

Weitere Untersuchungen sind im Gange.

---

[1]) Erlandsen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**.

[2]) Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere, **1901**.

[3]) Fränkel, diese Zeitschr. **24**, 268, 1910.

[4]) P. Manasse, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**, 478, 1895.

Die Kinetik der Invertinwirkung.

Von

L. Michaelis und Miß Maud L. Menten.

(Eingegangen am 4. Februar 1913.)

Mit 19 Figuren im Text.

Die Kinetik der Wirkung der Fermente wurde besonders häufig am Invertin studiert, weil wegen der Einfachheit und leichten Meßbarkeit seiner Wirkung die Untersuchung gerade dieses Fermentes besonders große Aussichten bietet, das Endziel der kinetischen Forschungen zu erreichen, nämlich aus dem Gange der Reaktion zu Schlüssen über das Wesen derselben zu gelangen. Die hervorragendsten Arbeiten darüber sind von Duclaux[1]), Sullivan und Thompson[2]), A. J. Brown[3]), sowie besonders von V. Henri[4]). Die Untersuchungen von Henri sind deshalb besonders bedeutungsvoll, weil es ihm gelang, von rationellen Vorstellungen über das Wesen der Fermentwirkung ausgehend zu einer mathematischen Formulierung des Ganges der Fermentwirkung zu gelangen, die sich den Tatsachen in vielen Punkten ganz gut anschloß. Von diesen Vorstellungen Henris werden wir auch in dieser Arbeit ausgehen. Wenn wir es unternommen haben, die ganze Arbeit wieder aufzunehmen, so liegt das daran, daß Henri zwei Momente noch nicht berücksichtigt hat, die von ganz hervorragender Bedeutung geworden sind und deren Vernachlässigung in den Henrischen Arbeiten heute so schwer empfunden werden muß, daß eine Neuuntersuchung notwendig geworden ist. Das erste ist die Berücksichtigung der Wasserstoffionenkonzentration, das zweite die Berücksichtigung der Multirotation des Zuckers.

[1]) Duclaux, Traité de Microbiologie 1899, Bd. II.

[2]) O. Sullivan und Thompson, Journ. Chem. Soc. 57, 834, 1890.

[3]) A. J. Brown, Journ. Chem. Soc. 1902, 373.

[4]) Victor Henri, Lois générales de l'action des diastases, Paris 1903.

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration ist durch die Arbeiten von Sörensen[1]) und von Michaelis und Davidsohn[2]) heute ganz klargestellt. Es wäre ein Zufall, wenn Henri in allen seinen Versuchen, bei denen er die Wasserstoffionenkonzentration nicht berücksichtigte, bei gleicher Wasserstoffionenkonzentration gearbeitet hätte. Das ist in den vorliegenden Untersuchungen überall berücksichtigt worden, einfach in der Weise, daß in allen Versuchen ein Acetatgemisch hinzugefügt wurde, das der Lösung die H'-Konzentration $2 \cdot 10^{-5}$ erteilte, welches einerseits die optimale H'-Konzentration für die Wirkung des Fermentes ist, andererseits diejenige H'-Konzentration, bei der es auf zufällige kleine Abweichungen derselben am wenigsten ankommt, weil im Gebiet der optimalen H-Ionenwirkung die Abhängigkeit der Fermentwirkung von der H'-Konzentration äußerst gering ist.

Mindestens ebenso bedeutsam ist aber in den Arbeiten von Henri die mangelnde Berücksichtigung der Tatsache, daß die Glucose bei der Invertierung des Zuckers zunächst in ihrer birotierenden Modifikation entsteht und erst allmählich in die normalrotierende Form spontan übergeht. Stellt man daher den Gang der Inversion durch dauernde Beobachtung des Polarisationswinkels dar, so ist das wahre Bild der Inversion stark verändert, indem die Inversion der Saccharose und die Drehungsänderung der frisch entstandenen Glucose sich superponieren. Man könnte diesen Umstand dadurch berücksichtigen, daß man rechnerisch die Drehungsänderung der Glucose berücksichtigt. Dieser Weg ist aber nicht sehr zweckmäßig, weil sehr komplizierte Funktionen entstehen, die man experimentell viel einfacher umgehen kann. Der bessere Weg ist daher der, im Laufe der Inversion von Zeit zu Zeit Proben des Gemisches zu entnehmen, die Fermentwirkung zu unterbrechen und die Einstellung der normalen Rotation der Glucose abzuwarten, bis man die Ablesungen vornimmt. Sörensen wählte dazu Sublimat, wir eine Sodalösung, die gleichzeitig das Invertin unwirksam macht und die Multirotation des Zuckers in wenigen Minuten beseitigt.

---

[1]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien II. Diese Zeitschr. **21**, 131, 1909.

[2]) L. Michaelis und H. Davidsohn, diese Zeitschr. **35**, 386, 1911.

Hudson[1]) hatte übrigens auch schon die Methode gewählt, die Multirotation durch Alkaliwirkung experimentell auszuschalten, ist aber zu einer von der unsrigen durchaus abweichenden Vorstellung über den Ablauf der Invertinwirkung gelangt. Er meint nämlich, wenn man die Multirotation ausschalte, so stelle die Inversion durch Invertin ebenso eine einfache logarithmische Funktion dar wie die Inversion durch Säure, und dieses Resultat steht im Gegensatz zu allen früheren Beobachtungen und trifft auch nach unseren Versuchen nicht einmal mit grober Annäherung zu. Wenn auch zweifellos die Versuche von Henri verbesserungsfähig sind, so ist ihr Fehler doch nicht so radikal, wie Hudson meint. (Auch Sörensen fand schon, daß die Angaben von Hudson nicht zutreffen.) Im Gegenteil meinen wir, daß die Grundgedanken, von denen Henri ausging, durchaus rationell sind, und wir werden nunmehr versuchen, von denselben Grundanschauungen auszugehen und sie an der Hand der verbesserten Methodik zu kontrollieren. Es wird sich zeigen, daß im Prinzip wenigstens die Gedanken von Henri völlig richtig sind und die Beobachtungen jetzt noch besser zu ihnen stimmen als die Versuche von Henri selbst.

Henri hatte schon festgestellt, daß die Spaltungsprodukte der Inversion, die Glucose und die Lävulose, einen hemmenden Einfluß auf die Invertinwirkung haben. Ganz prinzipiell werden wir nun hier auch so verfahren, daß wir den hemmenden Einfluß der Spaltprodukte — zunächst wenigstens — nicht rechnerisch berücksichtigen, sondern zunächst den Einfluß der Spaltprodukte experimentell ausschalten. Da dieser Einfluß nicht sehr groß ist, ist die Durchführung dieses Prinzips leicht. Man braucht nämlich bei wechselnder Anfangskonzentration der Saccharose die Inversion immer nur so weit zu verfolgen, als sich der Einfluß der gebildeten Spaltprodukte noch nicht experimentell bemerkbar macht. Wir werden also zunächst in allen Versuchen immer nur die Anfangsgeschwindigkeit der Inversion bei wechselnder Anfangsmenge der Saccharose verfolgen. Die Wirkung der Spaltprodukte läßt sich dann in besonderen Versuchen leicht für sich beobachten.

---

[1]) C. S. Hudson, Journ. Americ. Chem. Soc. **30**, 1160 und 1564, 1908; **31**, 655, 1909; **32**, 1220 und 1350, 1910.

1. Die Anfangsgeschwindigkeit der Inversion bei wechselnder Saccharosekonzentration.

Der Einfluß der Saccharosekonzentration auf die fermentative Inversion wurde schon von allen zitierten früheren Autoren untersucht und übereinstimmend etwa folgendes gefunden. In gewissen mittleren Konzentrationen der Saccharose hängt die Inversionsgeschwindigkeit von der anfänglichen Zuckermenge kaum ab, sie ist bei gegebener Fermentmenge konstant, dagegen vermindert sie sich bei niederen und auch bei höheren Zuckerkonzentrationen. Unsere eigenen Versuche wurden folgendermaßen durchgeführt. Es wurde eine wechselnde Menge einer bestimmten Saccharoselösung mit 20 ccm eines Gemisches von gleichen Teilen einer $^1/_5$ n-Essigsäure und $^1/_5$ n-Natriumacetat, mit einer gewissen Fermentmenge und Wasser zur Auffüllung auf ein stets gleiches Volumen von 150 ccm versetzt. Alle Flüssigkeiten wurden in einem großen Wasserbade von genau $25{,}0 \pm < 0{,}05^0$ gut vorgewärmt und auch während der Reaktion auf dieser Temperatur erhalten. Die erste Probe wurde so schnell wie möglich nach dem Vermischen der Flüssigkeit entnommen, und dann in geeigneten Abständen weitere Proben entnommen. Jede entnommene Probe von 25 ccm wurde in ein Gefäß mit 3 ccm einer $^1/_2$ n-Sodalösung eingefüllt und dadurch die Fermentwirkung sofort unterbrochen. Nach etwa $^1/_2$ Stunde wurde die Lösung polarimetrisch untersucht. Die Anfangsdrehung wurde aus den ersten wirklich abgelesenen Werten extrapoliert. Da diese Extrapolation höchstens einige hundertstel Grade betrug, ist sie auf alle Fälle zulässig. Häufig wurde kontrolliert, ob die Multirotation des Zuckers wirklich abgelaufen war, indem nach $^1/_2$ Stunde die Ablesung wiederholt wurde. Jede in den Protokollen notierte Ablesung ist das Mittel aus 6 Einzelablesungen, die nur um wenige hundertstel Grade differieren durften. Stellen wir nun in einem einzelnen Versuch die Drehungsabnahme als Funktion der Zeit dar, so sehen wir, daß die Drehung im Anfang des Prozesses auf eine ziemlich lange Strecke geradlinig mit der Zeit abnimmt. Als Anfangsgeschwindigkeit der Inversion bezeichnen wir nun die Drehungsabnahme pro Minute in diesem ersten Intervall, das noch als geradlinig aufgefaßt werden darf. Die Versuche ergaben folgendes:

In Tabelle I bis IV sind die Drehungen bezüglich des wahren Nullpunktes des Polarisationsapparates und zweitens in bezug auf die (sehr geringfügige) Eigendrehung der Fermentlösung korrigiert.

Tabelle I (hierzu Fig. 1).

Zeit (t) in Minuten	Korrigierte Drehung	Drehungs-änderung x	Anfangs-konzen-tration der Saccharose	Zeit (t) in Minuten	Korrigierte Drehung	Drehungs-änderung x	Anfangs-konzen-tration der Saccharose
1. 0	[14,124]	0	0,333n	2. 0	[7,123]	0	0,167 n
1	14,081	0,043		1	7,076	0,047	
7	13,819	0,305		8	6,749	0,374	
14	13,537	0,587		16	6,528	0,595	
26	13,144	0,980		28	6,109	1,014	
49	12,411	1,713		52	5,272	1,851	
75	11,502	2,602		82	4,316	2,807	
117	10,156	3,968		103	3,592	3,531	
1052	− 4,129	18,253		24 Std.	− 2,219	9,342	
theor. Schlußwert		18,57		theor. Schlußwert		9,35	
3a. 0	[3,485]	0	0,0833 n	3b. 0	3,394	0	0,0833 n
2,5	3,440	0,045		1	3,367	0,027	
12,5	3,262	0,223		6	3,231	0,163	
49,5	1,880	1,605		13	2,941	0,453	
90,0	0,865	2,620		21	2,672	0,722	
125,0	0,340	3,145		33	2,302	1,092	
151,0	0,010	3,496		57	1,626	1,768	
208,0	− 0,617	4,102		90	0,824	2,570	
267,0	− 0,815	4,300		24 Std.	− 1,109	4,503	
24 Std.	− 0,998	4,483		theor. Endwert		4,56	
theor. Endwert		4,560					
4. 0	[1,745]	0	0,0416 n	5. 0	[0,906]	0	0,0208 n
2,25	1,684	0,061		1	0,881	0,025	
10,25	1,487	0,258		6	0,729	0,177	
30,75	0,929	0,816		17	0,512	0,394	
61,75	0,359	1,386		27	0,369	0,537	
90,75	0,061	1,684		38	0,179	0,727	
112,75	− 0,169	1,914		62	0,029	0,877	
132,75	− 0,339	2,084		95	− 0,117	1,023	
154,75	− 0,374	2,119		1372	− 0,230	1,136	
1497,00	− 0,444	2,189		24 Std.	− 0,272	1,178	
theor. Endwert		2,247		theor. Endwert		1,190	
6. 0	[0,480]	0	0,0104 n	7. 0	[0,226]	0	0,0052 n
0,5	0,472	0,012		1	0,219	0,007	
5,5	0,396	0,084		8	0,172	0,054	
11,0	0,329	0,151		16	0,092	0,134	
19,0	0,224	0,251		28	0,056	0,170	
35,0	0,127	0,353		50	− 0,012	0,238	
75,0	0,021	0,459		80	− 0,089	0,315	
117,0	− 0,059	0,539		114	− 0,117	0,343	
149,0	− 0,114	0,594		2960	− 0,104	0,330	
24 Std.	− 0,127	0,607		—	—	—	
theor. Schlußwert		[0,630]		—	—	—	

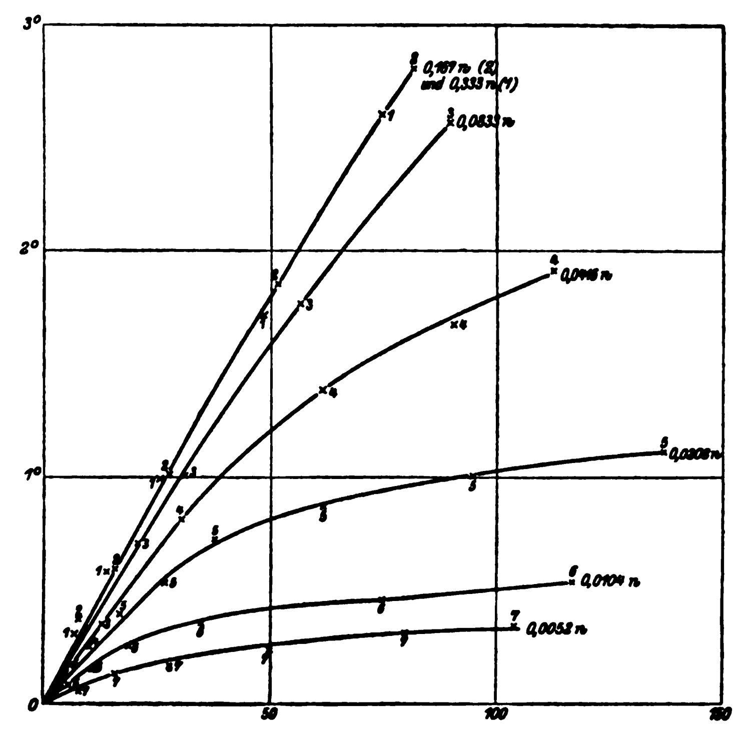


Fig. 1. Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Abnahme der Drehung in Graden. Jede Kurve gilt für einen Versuch mit der angeschriebenen Anfangskonzentration von Saccharose. Die Versuchszahlen (1 bis 7) decken sich mit denen des Protokolls Tabelle I. Versuch 3 ist aus den Parallelversuchen 3a und 3b zusammengesetzt. Fermentmenge überall gleich.

Ergebnis des Versuchs Tabelle I (hierzu Fig. 1a).

	Anfangsgeschwindigkeit	Anfangskonzentration der Saccharose a	log a
1.	3,636	0,3330	−0,478
2.	3,636	0,1670	−0,777
3.	3,236	0,0833	−1,079
4.	2,666	0,0416	−1,381
5.	2,114	0,0208	−1,682
6.	1,466	0,0104	−1,983
7.	0,866	0,0052	−2,284

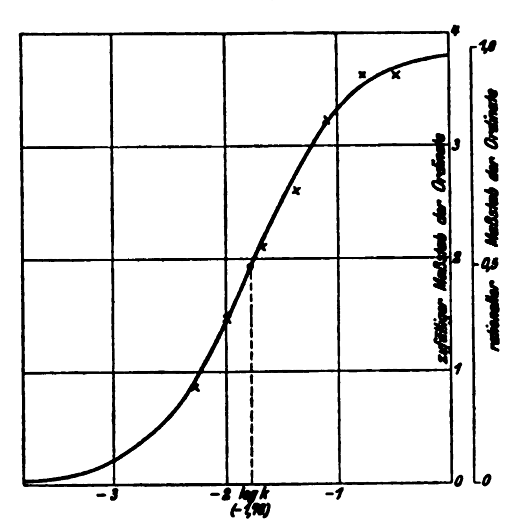


Fig. 1 a. Abszisse: Logarithmen der Anfangskonzentration der Saccharose. Ordinate: Die Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung, ausgedrückt in Drehungsabnahme (in Graden) pro Zeiteinheit (Minute), graphisch ermittelt aus Fig. 1. Über den „rationellen Maßstab" der Ordinate vgl. S. 346.

Tabelle II (hierzu Fig. 2).

	Zeit (t) in Minuten	Drehung	Drehungsänderung	Anfangskonzentration der Saccharose		Zeit (t) in Minuten	Drehung	Drehungsänderung	Anfangskonzentration der Saccharose
A	0	[31,427]	0	0,77 n	*B*	0	[15,684]	0	0,385 n
	0,5	31,393	0,034			0,5	15,643	0,041	
	7,0	30,951	0,476			7,0	15,148	0,536	
	15,0	30,486	0,941			15,0	14,543	1,141	
	23,0	30,025	1,402			23,0	13,935	1,749	
	38,0	29,185	2,242			38,0	13,183	2,501	
C	0	[7,949]	0	0,192 n	*D*	0	[3,853]	0	0,096 n
	0,5	7,910	0,039			0,5	3,810	0,043	
	7,0	7,407	0,542			9,0	3,090	0,763	
	15,0	6,790	1,159			17,0	2,741	1,112	
	23,0	6,161	1,788			25,0	2,063	1,790	
	32,0	5,523	2,426			34,0	1,551	2,302	
E	0	[2,063]	0	0,048 n	*F*	0	[1,374]	0	0,0308 n
	0,5	2,033	0,030			0,5	1,348	0,026	
	7,0	1,643	0,420			6,0	1,055	0,319	
	15,0	1,197	0,866			13,0	0,706	0,668	
	23,0	0,791	1,272			22,0	0,403	0,971	
	32,0	0,440	1,623			32,0	0,138	1,236	
G	0	[0,707]	0	0,0154 n	*H*	0	[0,360]	0	0,0077 n
	0,5	0,690	0,017			0,5	0,348	0,012	
	6,0	0,505	0,202			6,0	0,220	0,140	
	13,0	0,340	0,367			13,0	0,161	0,199	
	22,0	0,160	0,547			22,0	0,105	0,255	
	32,0	0,050	0,657			32,0	0,046	0,314	

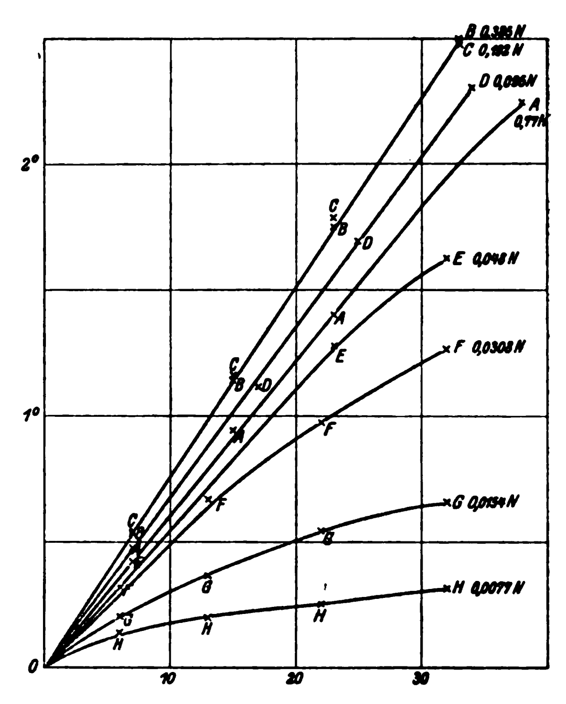


Fig. 2. Bezeichnungen wie Fig. 1. Graphische Darstellung des Versuches Tabelle II. Etwa doppelte Fermentmenge gegenüber dem Versuch der Fig. 1.

Ergebnis des Versuchs Tabelle II (hierzu Fig. 2a).

	Anfangs-geschwindigkeit	Anfangsmenge der Saccharose a	log a
1.	0,0630	0,7700	−0,114
2.	0,0750	0,3850	−0,414
3.	0,0750	0,1920	−0,716
4.	0,0682	0,0960	−1,017
5.	0,0583	0,0480	−1,318
6.	0,0500	0,0308	−1,517
7.	0,0350	0,0154	−1,813
8.	0,0267	0,0077	−2,114

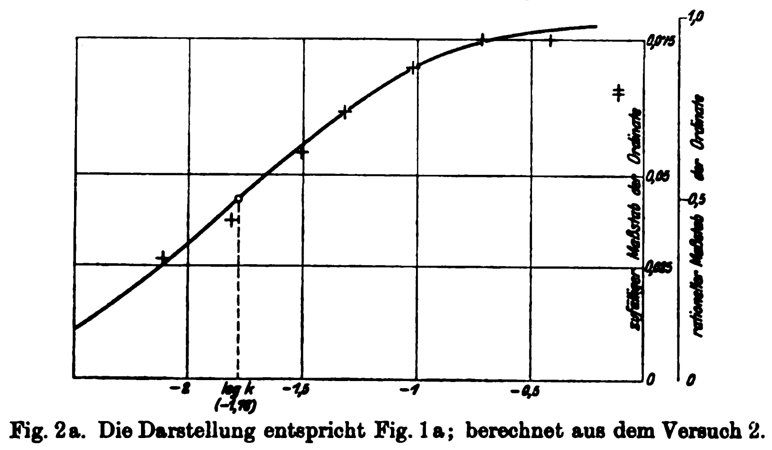


Fig. 2a. Die Darstellung entspricht Fig. 1a; berechnet aus dem Versuch 2.

Tabelle III (hierzu Fig. 3).

Zeit (t) in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Anfangs-menge der Saccharose	Zeit (t) in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Anfangs-menge der Saccharose
A 0	[30,946]	0	0,77 n	*B* 0	[15,551]	0	0,385 n
0,5	30,935	0,011		0,5	15,541	0,010	
30,0	30,325	0,621		30,0	14,973	0,578	
60,0	29,715	1,231		60,0	14,353	1,198	
90,0	29,286	1,660		90,0	13,810	1,741	
123,0	28,506	2,440		123,0	13,138	2,413	
C 0	[7,623]	0	0,193 n	*D* 0	[3,869]	0	0,096 n
0,5	7,613	0,010		0,5	3,860	0,009	
31,0	6,990	0,633		27,0	3,366	0,503	
55,0	6,430	1,193		53,0	2,791	1,078	
74,0	6,040	1,583		74,0	2,533	1,336	
—	—	—		101,0	1,998	1,871	
E 0	[2,004]	0	0,048 n	*F* 0	[0,967]	0	0,024 n
0,5	1,995	0,009		0,5	0,953	0,004	
27,0	1,485	0,546		27,0	0,711	0,246	
53,0	1,113	0,891		53,0	0,446	0,511	
74,0	0,848	1,156		73,0	0,343	0,614	
101,0	0,555	1,449		100,0	0,195	0,762	

Ergebnis des Versuchs Tabelle III (hierzu Fig. 3a).

	Konzentration (x)	$\log x$	Anfangs-geschwindigkeit v
1.	0,770	0,114	0,3166
2.	0,385	0,414	0,3166
3.	0,193	0,716	0,2154
4.	0,096	1,017	0,0192
5.	0,048	1,318	0,0166
6.	0,024	1,619	0,0088

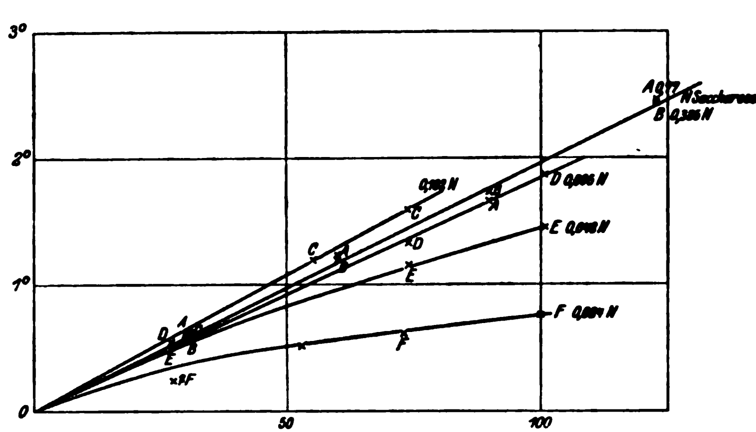


Fig. 3. Graphische Darstellung des Versuches Tabelle III. Fermentmenge etwa halb so groß als in Fig. 1.

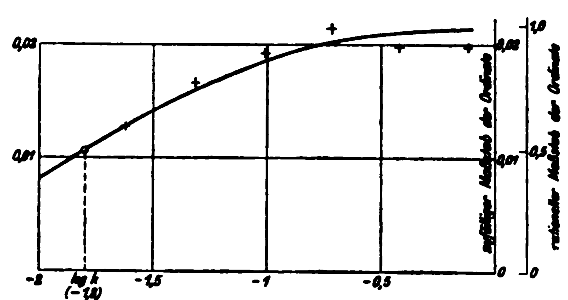


Fig. 3a. Darstellung wie Fig. 1a, berechnet aus dem Versuch Fig. 3.

Tabelle IV (hierzu Fig. 4).

	Zeit (t) in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Anfangs-menge der Saccharose		Zeit (t) in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Anfangs-menge der Saccharose
1.	0	[31,205]	0	0,77 n	2.	0	[15,588]	0	0,385 n
	0,5	31,190	0,015			0,5	15,570	0,018	
	68,0	29,183	2,022			67,0	13,140	2,448	
3.	0	[7,849]	0	0,193 n	4.	0	[3,980]	0	0,096 n
	0,5	7,830	0,019			0,5	3,963	0,017	
	62,0	5,416	2,433			62,0	1,840	2,140	
5.	0	[1,984]	0	0,048 n	6.	0	[1,031]	0	0,024 n
	0,5	1,970	0,014			0,5	1,013	0,018	
	30,0	1,133	0,851			10,0	0,665	0,366	
	—	—	—			29,0	0,415	0,616	
	—	—	—			36,0	0,321	0,710	

Ergebnis des Versuchs Tabelle IV (hierzu Fig. 4a).

	Konzentration (x)	$\log x$	Anfangsgeschwindigkeit v
1.	0,770	0,114	0,0297
2.	0,385	0,414	0,0365
3.	0,193	0,716	0,0374
4.	0,096	1,017	0,0345
5.	0,048	1,318	0,0284
6.	0,024	1,619	0,0207

Zur Deutung dieser Versuche werden wir mit Henri die Annahme machen, daß das Invertin mit der Saccharose eine Verbindung eingehe, die sehr labil ist und in freies Ferment, Glucose und Lävulose zerfällt. Wir werden an der Hand unserer Versuche prüfen, ob eine solche Annahme berechtigt ist. Trifft diese Annahme zu, so muß die Geschwindigkeit der Inversion proportional der jeweiligen Konzentration der Saccharose-Ferment-Verbindung sein.

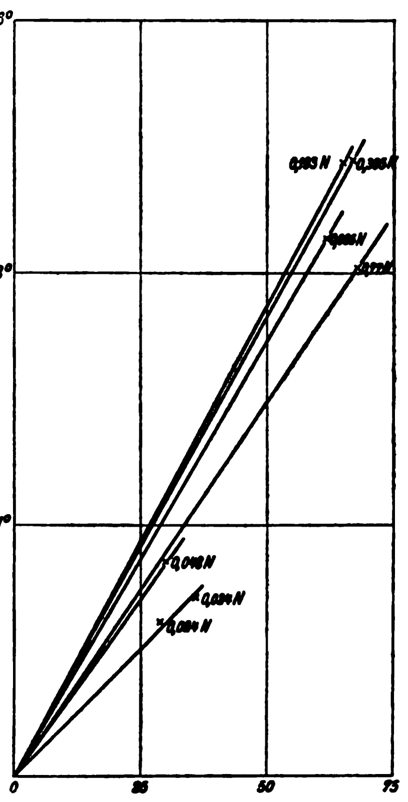


Fig. 4. Graphische Darstellung des Versuches Tabelle IV. Fermentmenge annähernd gleich der des Versuchs Fig. 1.

Wenn nun 1 Mol Ferment mit 1 Mol Saccharose eine Verbindung von 1 Mol Zucker-Ferment-Verbindung eingeht, so lehrt das Massenwirkungsgesetz, daß stets

$$[S] \cdot [\Phi - \varphi] = k\varphi \quad . \quad . \quad (1)$$

Hier ist $[S]$ die Konzentration der freien Saccharose, oder da ja von der Saccharose immer nur ein verschwindend kleiner Teil von dem Ferment in Beschlag gelegt ist, auch die Gesamtkonzentration der Saccharose; Φ ist die gesamte molare Fermentkon-

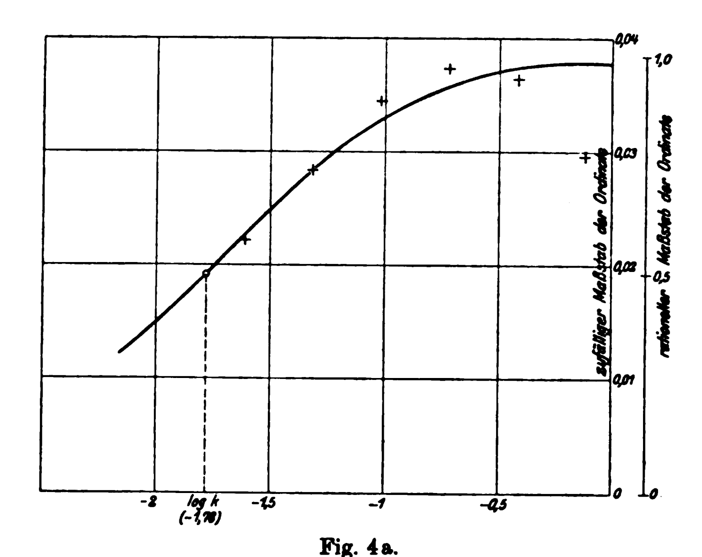


Fig. 4a.
Darstellung wie Fig. 1a. Berechnet aus Versuch Fig. 4.

zentration, φ die Konzentration des gebundenen Fermentes oder der Ferment-Zuckerbindung, also $[\Phi - \varphi]$ die Konzentration des freien Fermentes. k ist die Dissoziationskonstante. Hieraus folgt, daß

$$\varphi = \Phi \cdot \frac{[S]}{[S] + k} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad (2)$$

Dieser Menge muß also die Anfangsgeschwindigkeit, v, der Inversion immer proportional sein, oder

$$v = C \cdot \Phi \cdot \frac{[S]}{[S] + k} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad (3)$$

wo C den Proportionalitätsfaktor bedeutet. Da wir experimentell v in einem willkürlichen Maßsystem (Drehungsänderung pro Minute) messen, und da Φ in einer Versuchsserie konstant gehalten wird, so können wir $\frac{v}{C\,\Phi}$ einfach als V bezeichnen. V ist somit irgendeine Funktion, die aber der wahren Anfangsgeschwindigkeit proportional ist. So ist

$$V = \frac{[S]}{[S] + k} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad (4)$$

Diese Funktion ist formal dieselbe wie die Dissoziationsrestkurve einer Säure[1])

$$\varrho = \frac{[H^{\cdot}]}{[H^{\cdot}] + k}$$

und wir werden zur besseren graphischen Darstellung, wie früher, den Logarithmus der unabhängigen Variablen auf der Abszisse auftragen. Wir stellen demnach V als eine Funktion $\log [S]$ dar und müssen die wohlbekannte Dissoziationsrestkurve erhalten. Hier wissen wir nur noch nicht, welche Strecke wir als die Einheit der Ordinate zu wählen haben. Wir wissen zunächst nur, daß der größte (asymptotisch erreichte) Wert von $V = 1$ sein muß, und daß der Fußpunkt derjenigen Ordinate, der der Wert $\frac{1}{2}$ zukommt, den Logarithmus von k anzeigen muß. Um diesen Maßstab zu finden, wenden wir folgendes graphische Verfahren an.

Nehmen wir einmal an, wir hätten durch den Versuch eine Anzahl Punkte bestimmt, von denen wir vermuten, daß sie eine Dissoziationsrestkurve bilden. Da der Maßstab, in dem wir die Ordinaten dieser Punkte gemessen haben, willkürlich ist, so ist anzunehmen, daß dieser Maßstab ein anderer sein wird als der der Abszisse. Die Funktion, die wir graphisch darstellen, ist, wenn $s = \log [S]$ ist

$$V = \frac{10^s}{10^s + k}$$

oder, wenn wir $10 = e^p$ setzen, wo p der Modulus des dekadischen Logarithmensystems $= 2{,}303$ ist,

$$V = \frac{e^{ps}}{e^{ps} + k}$$

Durch Differenzieren erhalten wir

$$\frac{dV}{ds} = \frac{p \cdot k \cdot e^{ps}}{(e^{ps} + k)^2}.$$

Dieser Differentialquotient stellt die Tangente des Neigungswinkels für das betreffende Stückchen der Kurve dar. Nun

---

[1]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 33, 182, 1911; s. auch: Derselbe, Die allgemeine Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration usw. in Oppenheimers Handb. d. Biochemie, Ergänzungsband, 1913.

hat die Dissoziationsrestkurve ein Stück, dessen Neigungswinkel sich besonders leicht erkennen läßt, weil dieses Stück auf eine lange Strecke fast genau eine gerade Linie darstellt. Dieses ist das mittlere Stück der Kurve, im besonderen derjenige Punkt der Kurve, dessen Ordinate $= \frac{1}{2}$ ist. Wir wissen (vgl. die soeben zitierten Arbeiten), daß dieser Ordinate der Punkt $\log k$ auf der Abszisse entspricht. Setzen wir nun für V den Wert $\frac{1}{2}$ und für s den Wert $\log k$, bzw. für e^{ps} den Wert k in unseren Differentialquotienten ein, so ist

$$\frac{dV}{ds}_{\text{für } V = 1/2} = \frac{p}{4} = \frac{2{,}3026}{4} = 0{,}576.$$

Das bedeutet also: der mittlere, fast geradlinige Teil der Kurve hat einen Neigungswinkel gegen die Abszisse, dessen Tangente $= 0{,}576$ ist (d. h. einen Neigungswinkel von ziemlich genau 30^0). Das gilt natürlich unter der Voraussetzung, daß Ordinate und Abszisse in gleichem Maße gemessen werden. Wir verbinden nunmehr die experimentell bestimmten Punkte des mittleren Teiles unserer Kurve durch eine gerade Linie und finden etwa, daß die Tangente ihres Neigungswinkels $= \nu$ ist. Daraus können wir schließen, daß die Einheit der Ordinate zur Einheit der Abszisse sich wie $0{,}576 : \nu$ verhalten muß, d. h. die Einheit der Ordinate ist das $\frac{\nu}{0{,}576}$ fache der Einheit der Abszisse. Nunmehr können wir an der Ordinate den richtigen Maßstab abtragen. (Vgl. Fig. 1a, 2a, 3a, 4a: „rationeller Maßstab). Wir bestimmen zunächst die Lage des Punktes 0,5 nach diesem neuen Maßstabe. Diejenige Ordinate der Kurve, die diesem Punkt entspricht, zeigt in ihrem Fußpunkt auf der Abszisse den Wert von $\log k$ an. Nunmehr kennen wir k und können graphisch die ganze Dissoziationsrestkurve Punkt für Punkt konstruieren. Wir werden dies tun und nun nachsehen, ob alle beobachteten Werte sich dieser Kurve gut einfügen, vor allem also, ob der Wert 1 auch wirklich nicht überschritten wird. Wenn wir dieses Verfahren für unsere Versuche anwenden, so finden wir für jede Kurve einen bestimmten Wert für ν; wir konstruieren die Kurven danach und finden bis auf eine gleich zu erwähnende Unstimmigkeit eine recht gute Übereinstimmung der beobachteten Punkte mit den berechneten.

Eine zweite Methode der graphischen Bestimmung des Maßstabes der Ordinate ist folgende. Sind am rechten Ende der Kurve mehrere Punkte gut bestimmt, von denen man sagen kann, daß sie den maximalen Wert der Ordinate praktisch erreichen, so kann man die denselben zugehörige Ordinate einfach $= 1$ setzen. Man konstruiert jetzt wieder den schrägen, mittleren Teil der Kurve durch geradlinige Verbindung der in diesem Abschnitt beobachteten Punkte und mißt aus, welchem dieser Punkte die Ordinate 0,5 in dem neuen Maßstab zukommt. Somit haben wir wieder alle Daten zur Konstruktion der Kurve.

Die erste Methode wird man wählen, wenn die mittleren Punkte der Kurve besser experimentell festgelegt sind, die zweite, wenn die mehr am rechten Ende gelegenen Punkte der Kurve experimentell besser belegt sind. Wo es möglich ist, verwendet man beide Methoden und überzeugt sich von der Gleichheit des Resultats oder wählt, bei einer kleinen Differenz der ermittelten Dissoziationskonstante, das Mittel aus den beiden graphischen Bestimmungen als wahrscheinlichsten Wert. Durch Kombination dieser beiden Methoden sind alle gezeichneten Kurven gewonnen worden. Es wurden in jedem der 4 Fälle (Kurve 1a, 2a, 3a, 4a) eine Schar von Dissoziationskurven derart konstruiert, und zwar für alle möglichen, auf Grund der graphischen Bestimmungen nach den beschriebenen zwei Methoden noch ins Bereich der Wahrscheinlichkeit fallenden Größen für die Maßeinheit der Ordinate, und die dem Verlauf nach bestpassende ausgesucht und so weit nach rechts oder links auf und ab geschoben, bis alle Beobachtungspunkte möglichst gut zu ihr stimmten. Es ist nun in der Tat möglich, in jedem der 4 Fälle eine Kurve zu finden, derart, daß die beobachteten Punkte innerhalb der erlaubten Fehlergrenzen mit ihr zusammenfallen, trotzdem die 4 Versuchsserien mit ganz verschiedenen Fermentmengen angestellt wurden.

Die Dissoziationskonstante der Invertin-Saccharose-Verbindung fanden wir nach diesem graphischen Verfahren in den einzelnen Versuchen:

	1	2	3	4
$\log k =$	$-1{,}78$	$-1{,}78$	$-1{,}80$	$-1{,}78$
$k =$	0,0167	0,0167	0,0160	0,0167

mit guter Übereinstimmung, obwohl die einzelnen Versuchsserien mit verschiedenen Fermentmengen[1]) angestellt sind. Wir erhalten hier zum ersten Male ein Bild von der Größe der Affinität eines Fermentes zu seinem Substrat, und wir messen hier zum ersten Male die Größe einer „**spezifischen**" Affinität nach der van't Hoffschen Definition der chemischen Affinitätsgröße.

Der Sinn dieser Affinitätskonstante ist folgender. Wenn wir die Ferment-Saccharose-Verbindung rein darstellen könnten und sie in solcher Konzentration in Wasser lösten, daß der undissoziierte Anteil derselben die Konzentration von einfach molar im Liter hätte, so wäre daneben noch in Lösung $\sqrt{0{,}0167}$ oder 0,133 Mol freies Ferment und ebensoviel freie Saccharose.

Die Genauigkeit, mit welcher die Bestimmung von k möglich ist, ist in den 4 verschiedenen Versuchen (Fig. 1a, 2a, 3a, 4a) verschieden groß. Dem ungeübten Betrachter wird wahrscheinlich die unvermeidliche Willkür in der Eintragung der Beobachtungspunkte bedenklich erscheinen. Und doch macht das sehr wenig aus. So ist z. B. die schlechteste unserer 4 Kurven wohl Fig. 3a. Wir finden hier graphisch $\log k = -1{,}8$. Wir könnten vielleicht die Kurve auch so ausrechnen, daß $\log k = -1{,}9$ oder $-1{,}7$ würde. Aber schon die Annahme, daß $\log k = -2{,}0$ wäre, würde mit dem Verlauf einer Dissoziationskurve nicht mehr vereinbar sein, und dasselbe gilt für die Annahme $\log k = -1{,}5$. Der Spielraum für den wahren Wert von k ist also selbst für eine so schlechte Kurve wie Fig. 3a nicht groß, sobald man nur durch einige andere, bessere Versuche den Nachweis geführt hat, daß wir die Kurve überhaupt als eine „Dissoziationsrestkurve" auffassen dürfen.

Die Übereinstimmung der theoretischen Kurve mit den beobachteten Punkten ist von den niedersten, der Beobachtung zugänglichen Konzentrationen an Saccharose bis herauf zu etwa 0,4 n (entsprechend dem Logarithmus $-0{,}4$) befriedigend. Bei noch höherer Konzentration tritt allerdings eine Abweichung ein, indem die Geschwindigkeiten wieder kleiner werden, statt konstant zu bleiben.

Jedoch tragen wir kein Bedenken, über diese Abweichung

[1]) Die Fermentmengen der Versuchsserien I, II, III, IV berechnen sich aus den Anfangsgeschwindigkeiten fast genau wie 1 : 2 : 0,5 : 1.

hinwegzusehen, weil wir hier sicherlich nicht mehr die reinen Eigenschaften einer verdünnten Lösung vor uns haben. Es ist nicht anders zu erwarten, als daß die entwickelte Gesetzmäßigkeit nur ein gewisses Gültigkeitsbereich hat. Die Ursachen für das Versagen des Gesetzes in hohen Zuckerkonzentrationen kann auf verschiedene Umstände zurückgeführt werden, deren Einfluß wir einzeln nicht zahlenmäßig angeben können. Der wichtigste Einfluß ist das, was man als „Veränderung der Natur des Lösungsmittels" zusammenfassen könnte. Wir haben in einer normalen, d. h. 34%igen Zuckerlösung nicht mehr einfach das Wasser als Lösungsmittel zu betrachten, sondern der Zucker selbst ändert schon den Charakter des Lösungsmittels. Hiermit hängt zusammen, daß auch die Affinitätskonstante von Ferment zu Zucker sich ändern wird, daß vielleicht auch die Geschwindigkeitskonstante des Zerfalles dieser Verbindung anders sein wird. Als ein Beispiel, wie eine Affinitätskonstante sich ändert, wenn der Charakter des Lösungsmittels durch Zusatz von organischen Stoffen verändert wird, mag die Untersuchung von Löwenherz[1]) über die Änderung der Dissoziationskonstante des Wassers bei Zusatz von Alkohol angeführt werden. Nur bis zu einem Gehalt von 7% Alkohol ist keine sichere Änderung derselben bemerkbar, bei höherem Gehalt verkleinert sie sich mehr und mehr.

2. Der Einfluß der Spaltprodukte und anderer Substanzen.

Daß die Spaltprodukte Glucose und Fructose einen hemmenden Einfluß auf die Hydrolyse der Saccharose haben, ist von den zitierten Autoren, insbesondere von Henri, schon festgestellt worden. Letzterer fand auch schon, daß der Einfluß der Fructose größer als der der Glucose ist. Unsere Aufgabe ist es nun, diesen Einfluß zahlenmäßig zu bestimmen. Wir nehmen mit Henri an, daß das Invertin nicht nur zur Saccharose, sondern auch zur Fructose und zur Glucose Affinität hat, und versuchen, die drei Affinitätskonstanten zahlenmäßig zu bestimmen. Wir verfuhren dazu folgendermaßen:

In einer Saccharoselösung wird, wie vorher, die von einer bestimmten Fermentmenge hervorgerufene Anfangsgeschwindigkeit der Hydrolyse bestimmt. Nunmehr wird in einem zweiten Versuch außerdem noch eine bestimmte Menge Fructose (bzw.

[1]) R. Löwenherz, Zeitschr. f. physikal. Chem. 20, 283, 1896.

Glucose) hinzugefügt und die Anfangsgeschwindigkeit der Saccharosespaltung verglichen. Es wird gefunden, daß dieselbe verringert ist. Wir können daraus schließen, daß die Konzentration der Saccharose-Ferment-Verbindung im zweiten Falle kleiner ist als im ersten, immer vorausgesetzt, daß die Anfangsgeschwindigkeit uns stets ein genaues Maß für die Konzentration der Saccharose-Ferment-Verbindung abgibt. Sind also v_0 und v die beiden Anfangsgeschwindigkeiten, φ_0 und φ die entsprechenden Konzentrationen der Saccharose-Ferment-Verbindung, so ist

$$v_0 : v = \varphi_0 : \varphi .$$

Wenn sich nun die Fermentmenge Φ zwischen der Saccharosemenge S und der Fructosemenge F verteilt, und wenn φ die Konzentration der Saccharose-Ferment-Verbindung und ψ die der Fructose-Ferment-Verbindung ist, so ist nach dem Massenwirkungsgesetz

$$S(\Phi - \varphi - \psi) = k \cdot \varphi ,$$
$$F(\Phi - \varphi - \psi) = k_1 \psi ,$$

wo k und k_1 die beiden Affinitätskonstanten sind.

Aus diesen beiden Gleichungen folgt durch Elimination von ψ

$$k_1 = \frac{F \cdot k}{S\left(\frac{\Phi}{\varphi} - 1\right) - k} \quad \ldots\ldots\ldots (1)$$

$\frac{\Phi}{\varphi}$ erfährt man auf folgende Weise: Macht man einen Parallelversuch ohne Fructose, so habe dieser die Anfangsgeschwindigkeit v_0 und die Konzentration der Saccharose-Ferment-Verbindung sei φ_0; im eigentlichen Hauptversuch mit Fructose seien diese beiden Größen gleich v bzw. φ, so ist

$$v : v_0 = \varphi : \varphi_0$$

$$\text{und } \varphi = \frac{v}{v_0} \cdot \varphi_0 .$$

In dem fructosefreien Kontrollversuch ist nun nach Seite 344, Gleichung (2)

$$\varphi_0 = \Phi \cdot \frac{S}{S + k}$$

und so wird

$$\varphi = \frac{v}{v_0} \cdot \Phi \cdot \frac{S}{S + k} \quad \ldots\ldots\ldots (2)$$

oder

$$\frac{\Phi}{\varphi} = \frac{v_0}{v} \cdot \frac{(S + k)}{S}$$

und schließlich durch Einsetzen dieses Wertes in (1)

$$k_1 = \frac{F \cdot k}{(S + k)\left(\frac{v_0}{v} - 1\right)} \quad \ldots \ldots \ldots (3)$$

Genaue Beschreibung der Versuche über den hemmenden Einfluß anderer Substanzen (Fructose und Glucose).

Tabelle 5 (hierzu Fig. 5).

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
I 0,0	[3,905]	0,000	Saccharose 0,1 n
0,5	3,896	0,009	
15,0	3,640	0,365	
30,0	3,183	0,722	
I 0,0	[3,926]	0,000	Saccharose 0,1 n
(wieder- 0,5	3,915	0,011	
holt) 30,0	3,223	0,703	
46,0	2,971	0,935	
II 0,0	[5,643]	0,000	Saccharose 0,1 n
0,5	5,633	0,010	Glucose 0,1 n
30,0	5,033	0,610	
46,0	4,788	0,855	
III 0,0	[1,022]	0,000	Saccharose 0,1 n
0,5	1,013	0,009	Fructose 0,1 n
30,0	0,468	0,554	
46,0	0,237	0,785	

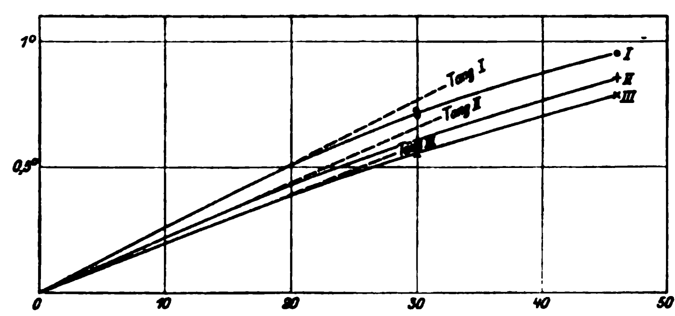


Fig. 5. Graphische Darstellung des Versuches Tabelle 5. Einfluß von Glucose und von Fructose.

Tabelle 6 (hierzu Fig. 6).

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
I 0,0	[5,579]	0,000	Saccharose 0,133 n
0,5	5,568	0,011	
30,0	4,891	0,688	
0,0	[5,361]	0,000	Saccharose 0,133 n
0,5	5,350	0,011	
30,0	4,691	0,670	
45,0	4,373	0,988	
II 0,0	[7,678]	0,000	Saccharose 0,133 n
0,5	7,665	0,013	+ Glucose 0,133 n
30,0	7,080	0,598	
0,0	[7,595]	0,000	Saccharose 0,133 n
0,5	7,585	0,010	+ Glucose 0,133 n
30,0	6,971	0,624	
45,0	6,735	0,860	

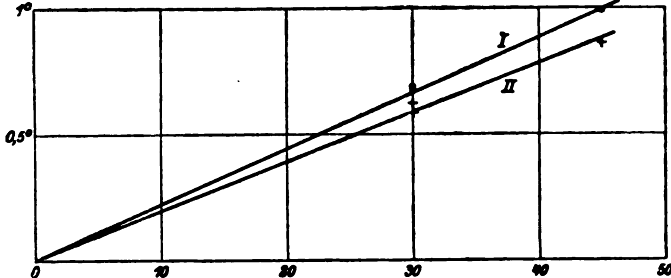


Fig. 6. Graphische Darstellung des Versuchs Fig. 6. Einfluß der Glucose.

Tabelle 7 (hierzu Fig. 7).

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
0,0	[3,384]	0,000	Saccharose 0,0833 n
0,5	3,358	0,026	
10,0	3,021	0,363	
20,0	2,691	0,693	
30,0	2,365	1,019	
0,0	[4,758]	0,000	Saccharose 0,0833 n
0,5	4,736	0,022	Glucose 0,0833 n
10,0	4,453	0,305	
20,0	4,190	0,568	
30,0	3,950	0,808	
0,0	[0,885]	0,000	Saccharose 0,0833 n
0,5	0,863	0,022	Fructose 0,0833 n
10,0	0,570	0,315	
20,0	0,305	0,580	
30,0	0,083	0,802	

Vorstehendes Protokoll gibt zunächst die experimentelle Anordnung des Versuches. Es wird, wie man sieht, der Gang der Spaltung in Gemischen verglichen, die in bezug auf Saccharose und Ferment gleich sind, alle bei optimaler Acidität und gleicher Temperatur verlaufen und sich nur durch den Gehalt an Fructose oder Glucose oder das Fehlen dieser Stoffe unterscheiden. Bei der Disposition solcher Versuche sind nun gewisse Schranken gesetzt. Zunächst muß man vermeiden, daß die Gesamtkonzentration an Kohlenhydraten zu hoch wird, um die Natur des Lösungsmittels nicht zu verändern. Im allgemeinen ist es nicht ratsam, über eine Gesamtkonzentration von 0,3 Normalität an Kohlenhydraten hinauszugehen. Hierdurch ist die Notwendigkeit gegeben, mit verhältnismäßig niederen Konzentrationen von Saccharose zu arbeiten. Damit entsteht aber gleichzeitig die Unbequemlichkeit, daß die Geschwindigkeit des Umsatzes nicht lange gleichförmig bleibt, sondern schon nach ziemlich kleinen Umsätzen die Kurve von der Geraden abzuweichen beginnt, so daß die Anfangsgeschwindigkeit nur aus kleinen Drehungsänderungen oder durch eine graphische Extrapolation ermittelt werden kann, bei der eine gewisse Willkürlichkeit nicht zu vermeiden ist. Diese Abweichungen von der Geraden treten bei dem Versuch mit reiner Saccharose (z. B. Fig. 8, I) oft stärker hervor als bei den Mischungsversuchen (Fig. 8, II), weil die Konzentration der hemmenden Spaltprodukte in reinen Saccharoseversuchen sich relativ stärker ändert, als in den Versuchen, wo schon zu Anfang eine gewisse Menge der hemmenden Substanzen zugegeben wird. Die allein für die Rechnung verwertbaren **Anfangsgeschwindigkeiten** können daher nur durch eine graphische Extrapolation angenähert festgestellt

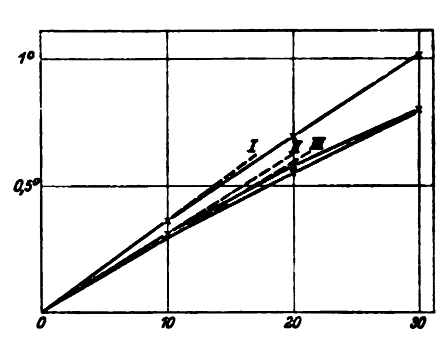


Fig. 7. Graphische Darstellung des Versuches Tabelle 7.
I = Versuch mit 0,0833 n-Saccharose.
II = Versuch mit 0,0833 n-Saccharose + 0,0833 n-Glucose.
III = Versuch mit 0,0833 n-Saccharose + 0,0833 n-Fructose.
Die Anfangstangenten gestrichelt.

werden: aus den beobachteten Punkten ergänzt man nach Augenmaß die wirkliche Kurve und betrachtet die nach Augenmaß gezogene Tangente des Neigungswinkels im Anfangspunkt dieser Kurve als Anfangsgeschwindigkeit. Diese einzig mögliche Art des Verfahrens kann daher auf große Genauigkeit bisher keinen Anspruch machen, wird uns jedoch von der Größenanordnung der uns interessierenden Zahlen sicherlich eine richtige Vorstellung geben. Diese (geometrischen) Tangenten sind in Fig. 5 gestrichelt angegeben. Das Verhältnis der zugehörigen trigonometrischen Tangenten $\frac{\text{Tang I}}{\text{Tang II}}$ ergibt sich für Fig. 5 durch Ausmessung zu 1,18; das Verhältnis $\frac{\text{Tang I}}{\text{Tang III}} = 1{,}29$.

Es ist also nach diesem Versuch $\frac{v_0}{v}$ für Glucose gleich 1,18, für Fructose gleich 1,29. Unter Anwendung der Formel (3) von S. 351 berechnet sich daraus

$$\frac{k_{\text{Glucose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 4{,}8 \qquad \text{und} \qquad \frac{k_{\text{Fructose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 3{,}0$$

Tabelle 8 (hierzu Fig. 8).

	Zeit in Minuten	Drehung	Drehungsänderung	Konzentration
I	0,0	[1,728]	0,000	Saccharose 0,0416 n
	0,5	1,715	0,013	
	7,0	1,552	0,176	
	14,0	1,860	0,368	
	21,0	1,168	0,560	
	28,0	0,982	0,746	
	36,0	0,862	0,866	
	44,0	0,403	1,325	
II	0,0	[−0,809]	0,000	Saccharose 0,0416 n
	1,0	−0,831	0,022	Fructose 0,0833 n
	7,0	−0,961	0,152	
	15,0	−1,116	0,307	
	22,0	−1,238	0,429	
	32,0	−1,471	0,662	

Wenden wir dasselbe Verfahren auf den Versuch (Fig. 7) an, so ergibt sich

$$\frac{\text{Tang I}}{\text{Tang II}} = 1{,}18 \qquad \text{und} \qquad \frac{\text{Tang I}}{\text{Tang III}} = 1{,}26$$

und daher

$$\frac{k_{\text{Glucose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 4{,}6 \quad \text{und} \quad \frac{k_{\text{Fructose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 3{,}2$$

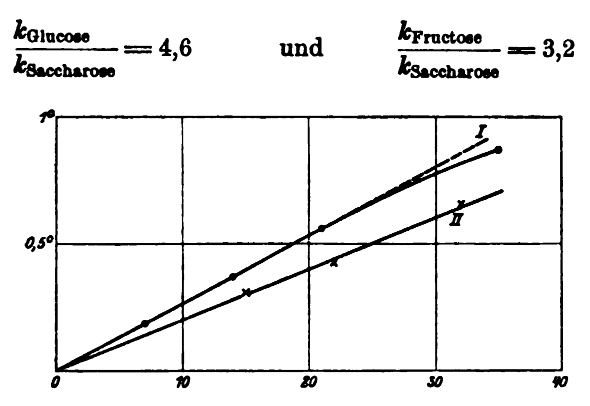


Fig. 8. Graphische Darstellung des Versuchs Tabelle 8.
Einfluß der Fructose.

Und für den Versuch (Fig. 9) ergibt sich folgendes. Eine Abweichung vom geradlinigen Verlauf zeigt sich in diesen Versuchen nicht. Hier ergibt sich

$$\frac{\text{Tang I}}{\text{Tang II}} = 1{,}27 \quad \text{und} \quad \frac{\text{Tang I}}{\text{Tang III}} = 1{,}43$$

und daher

$$\frac{k_{\text{Glucose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 5{,}3 \quad \text{und} \quad \frac{k_{\text{Fructose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 3{,}3$$

Tabelle 9 (hierzu Fig. 9).

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
I 0,0	[1,703]	0,000	Saccharose 0,0416 n
0,5	1,698	0,015	
7,0	1,501	0,212	
14,0	1,335	0,378	
21,0	1,153	0,560	
II 0,0	[3,039]	0,000	Saccharose 0,0416 n
0,5	3,031	0,008	Glucose 0,0832 n
7,0	2,923	0,116	
14,0	2,745	0,294	
21,0	2,608	0,431	
III 0,0	[−0,834]	0,000	Saccharose 0,0416 n
0,5	−0,845	0,011	Fructose 0,0832 n
7,0	−0,985	0,151	
14,0	−1,096	0,262	
21,0	−1,221	0,387	

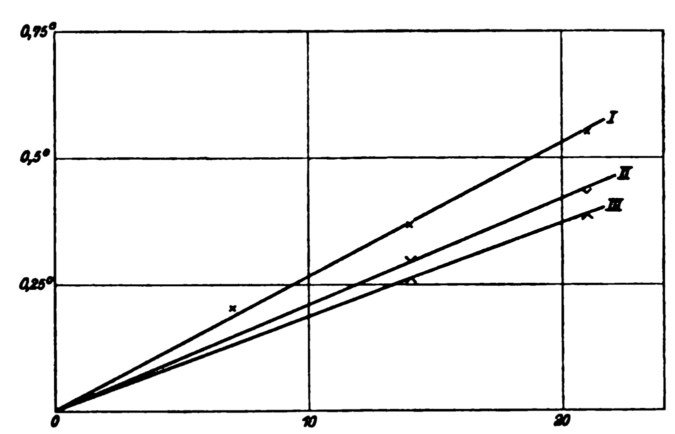


Fig. 9. Graphische Darstellung des Versuchs Fig. 9. Einfluß von Glucose und von Fructose.

Für Versuch (Fig. 6) ergibt sich

$$\frac{\text{Tang I}}{\text{Tang II}} = 1{,}133 \quad \text{und somit} \quad \frac{k_{\text{Glucose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 6{,}7$$

Für Versuch (Fig. 8) ergibt sich

$$\frac{\text{Tang I}}{\text{Tang II}} = 1{,}33 \quad \text{und somit} \quad \frac{k_{\text{Fructose}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 4{,}3$$

Eine Zusammenstellung aller dieser Versuche ergibt

					Mittel
$\frac{k_{\text{Glucose}}}{k_{\text{Saccharose}}}$ =	4,7	4,6	5,3	6,7	5,3
$\frac{k_{\text{Fructose}}}{k_{\text{Saccharose}}}$ =	3,0	3,2	3,3	4,3	3,45

und es ist nach (3), S. 351 die Dissoziationskonstante

der Glucose-Invertin-Verbindung = 0,088
" Fructose- " " = 0,058

Auf dieselbe Weise wurde der hemmende Einfluß einiger anderer Substanzen gemessen. Zunächst mußten wir zur Kontrolle der Berechtigung obiger Rechnungen uns davon überzeugen, daß fremde Substanzen, die sicherlich keine chemische Affinität zum Invertin haben können, auch keine Hemmung auf die Spaltung des Rohrzuckers ausüben, solange ihre Konzentration nicht die Natur des Lösungsmittels verändert. So überzeugten wir uns nochmals, daß Kaliumchlorid in einer

Konzentration von 0,1 normal nicht den allergeringsten, ja selbst in einfach normaler Konzentration keinen sicheren hemmenden Einfluß hat (Tab. 10 u. 13). Äthylalkohol hemmt in

Tabelle 10.

	Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
A	0,0	[3,901]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,881	0,020	
	33,0	2,540	1,361	
	59,0	1,716	2,185	
B	0,0	[3,878]	0,000	Saccharose 0,1 n Kaliumchlorid 0,1 n
	0,5	3,858	0,020	
	33,0	2,561	1,317	
	59,0	1,693	2,185	
V	0,0	[3,907]	0,000	Saccharose 0,1 n Mannit 0,1 n (vgl. hierzu Tab. XIV)
	0,5	3,885	0,020	
	33,0	2,573	1,334	
	59,0	1,761	2,146	
C	0,0	[4,001]	0,000	Saccharose 0,1 n + 1 n-Alkohol
	0,5	3,985	0,016	
	33,0	2,985	1,006	
	59,0	2,141	1,860	
D	0,0	[3,971]	0,000	Saccharose 0,1 n + Alkohol 0,2 n
	0,5	3,951	0,020	
	33,0	2,601	1,370	
	59,0	1,868	2,103	

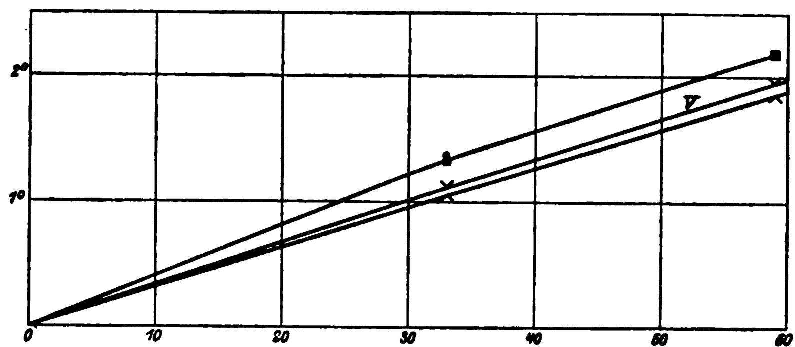


Fig. 10. Graphische Darstellung des Versuchs Tabelle 10.
▣ ◉ Versuch *A*, *B*, *D*. ∨ Glycerin 0,1 n (*V*). ∧ Versuch *C* (Alkohol 1 n).

einer Konzentration von 0,2 n nicht einmal in Spuren (Tab. 10). In normaler Konzentration dagegen ist eine geringe Hemmung vorhanden, die wohl ohne Zweifel auf die Veränderung der Natur des Lösungsmittels und nicht auf eine Affinität des

Fermentes zum Alkohol zu beziehen ist. Wollte man wie vorher die Hemmung im Sinne einer Affinität deuten und graphisch das Verhältnis

$$\frac{k_{\text{Alkohol}}}{k_{\text{Saccharose}}}$$

berechnen, so würde das den Wert 36 ergeben. Eine so schwache Affinität ist innerhalb der Versuchsfehler mit 0 gleichzusetzen (d. h. $k_{\text{Alkohol}} = \infty$ zu setzen), zumal wenn wir wissen, daß ein anderes hemmendes Moment, nämlich die Veränderung der Natur des Lösungsmittels, sicher vorhanden ist.

Von besonderem Interesse war nun die Untersuchung des Einflusses anderer Kohlenhydrate oder höherer mehrwertiger

Tabelle 11.

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
0,0	[2,081]	0,000	Saccharose 0,05 n
0,5	2,065	0,016	
20,0	1,386	0,695	
50,0	0,548	1,533	
0,0	[5,373]	0,000	Saccharose 0,05 n + 0,1 n-Lactose (Milchzucker)
0,5	5,358	0,015	
20,0	4,750	0,623	
50,0	3,815	1,558	
0,0	[8,805]	0,000	Saccharose 0,05 n + 0,2 n-Lactose
0,5	8,790	0,015	
20,0	8,168	0,637	
50,0	7,315	1,490	

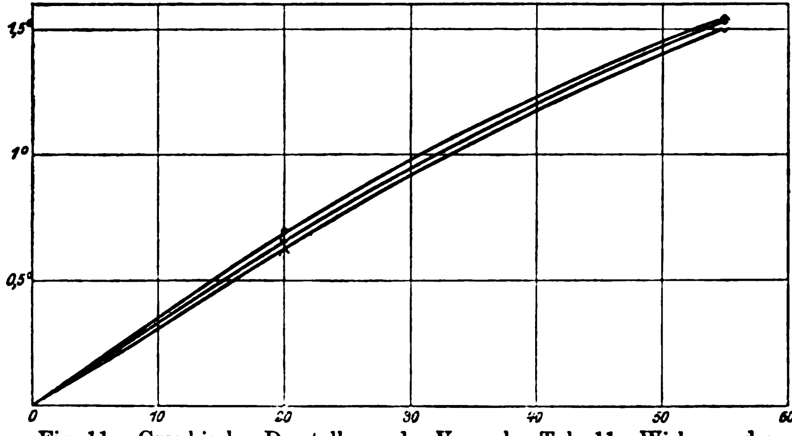


Fig. 11. Graphische Darstellung des Versuchs Tab. 11. Wirkung des Milchzuckers.

Alkohole. Von ganz besonderem Interesse war zunächst das Verhalten des Milchzuckers (Tab. 11 u. Fig. 11). Seine hemmende Wirkung erwies sich als so gering, daß wir sie kaum außerhalb der Fehlerquellen finden. Wollten wir die sehr geringen Ausschläge zur Berechnung benutzen, so würden wir finden

	Versuch 1	Versuch 2
$\frac{k_{Lactose}}{k_{Saccharose}}$ = mindestens	30	36

Da wir nicht bestimmt sagen können, ob solche kleine Ausschläge überhaupt sicher verwertbar sind, müssen wir uns mit der Konstatierung der Tatsache begnügen, daß eine Affinität von Milchzucker zum Invertin nicht mit Sicherheit meßbar ist. Dies entspricht auch der Erwartung, weil bei einem Disaccharid, wie es die Lactose ist, die Bindung von Invertin wohl ebenso zu einer Hydrolyse führen würde, wie bei der Saccharose, während doch Lactose durch Invertin nicht gespalten wird.

Mannose.

Ein Versuch ergab (Tab. 12 u. Fig. 12)

$$\frac{k_{Mannose}}{k_{Saccharose}} = 5{,}0.$$

Tabelle 12.

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs- änderung	Konzentration
0,0	[3,901]	0,000	Saccharose 0,1 n
0,5	3,881	0,020	
33,0	2,540	1,361	
59,0	1,716	2,185	
0,0	[4,717]	0,000	Saccharose 0,1 n
0,5	4,703	0,014	+ Mannose 0,2 n
33,0	3,778	0,939	
59,0	2,887	1,830	

Zur genaueren Bestimmung sind Wiederholungen notwendig; man sieht jedoch schon hier, daß die Affinität der Mannose der der Glucose etwa gleicht.

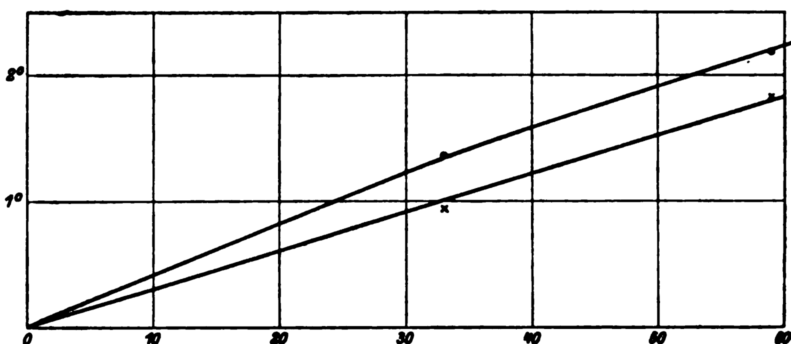


Fig. 12. Graphische Darstellung des Versuchs Tab. 12. Einfluß der Mannose.

Mannit.

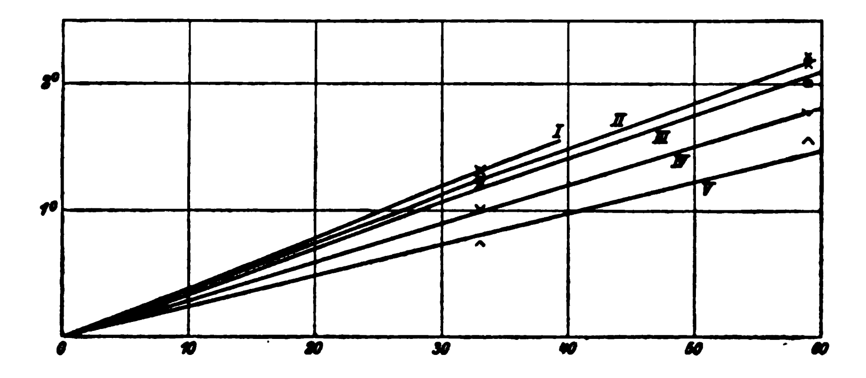
Der hemmende Einfluß war sehr gering. Dieses Beispiel wurde nun dazu benutzt, um einmal eine schwache Affinität

Tabelle 13.

	Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
I	0,0	[3,928]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,908	0,020	
	33,0	2,610	1,318	
	59,0	1,751	2,177	
IIa	0,0	[3,971]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,953	0,018	+ Mannit 0,1 n
	33,0	2,760	1,211	
	59,0	1,747	2,224	
IIb	0,0	[3,907]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,885	0,020	+ Mannit 0,1 n
	33,0	2,573	1,334	
	59,0	1,761	2,146	
III	0,0	[3,948]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,930	0,018	+ Mannit 0,25 n
	33,0	2,711	1,237	
	59,0	1,938	2,010	
IV	0,0	[3,953]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,938	0,015	+ Mannit 0,5 n
	33,0	2,917	1,036	
	59,0	2,205	1,748	
V	0,0	[3,921]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,910	0,011	+ Mannit 0,75 n
	33,0	3,163	0,758	
	59,0	2,348	1,573	
	0,0	[3,952]	0,000	Saccharose 0,1 n
	0,5	3,933	0,019	Kaliumchlorid 1 n
	33,0	2,700	1,252	
	59,0	1,744	2,208	

Tabelle 14.

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungs-änderung	Konzentration
0,0	[2,081]	0,000	Saccharose 0,05 n
0,5	2,065	0,016	
20,0	1,386	0,695	
50,0	0,548	1,533	
VII 0,0	[1,993]	0,000	Saccharose 0,05 n
0,5	1,980	0,013	+ Mannit 0,2 n
20,0	1,447	0,546	
50,0	0,685	1,308	
VI 0,0	[2,004]	0,000	Saccharose 0,05 n
0,5	1,990	0,014	+ Mannit 0,1 n
20,0	1,403	0,601	
50,0	0,627	1,377	



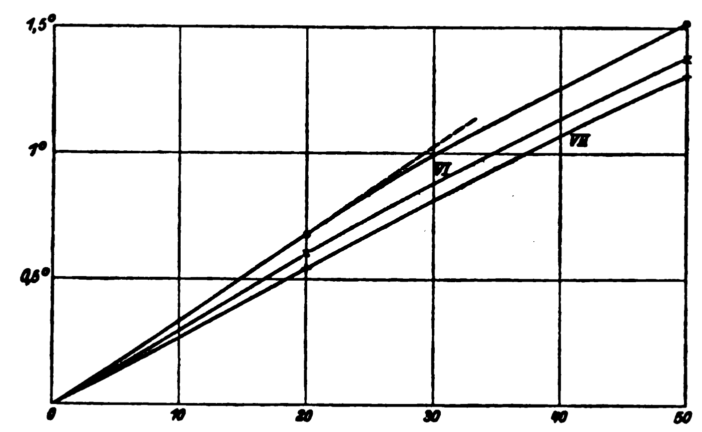


Fig. 13 (entsprechend Tabelle 13) und Fig. 14 (entsprechend Tabelle 14).
Einfluß des Mannits.

durch genügende Variation der Versuchsbedingungen möglichst quantitativ zu bestimmen. Aus Tabelle 13, Fig. 13 ergibt sich folgendes: Der Einfluß von 0,1 n-Mannit auf die Spaltung von 0,1 n-Saccharose ist nicht sicher meßbar. Bei Erhöhung der Mannitmenge und gleichbleibender Saccharosemenge tritt der Einfluß allmählich deutlicher in Erscheinung. Nach dem obigen Verfahren berechnet sich für

Versuch	III	IV	V	VI	VII
$\frac{k_{\text{Mannit}}}{k_{\text{Saccharose}}} =$	17	13,4	10,5	11,4	11,4

In Anbetracht der sehr kleinen Ausschläge ist die Übereinstimmung nicht schlecht, und es dürfte der Mittelwert

$$\frac{k_{\text{Mannit}}}{k_{\text{Saccharose}}} = 13$$

immerhin ein genügend zutreffendes Bild der Verhältnisse geben.

Glycerin.

Es liegt vor die Versuchsreihe Fig. 15, Tab. 15 und ein einzelner Versuch (Fig. 10). Es findet sich

Versuch	II	III	IV	V	
$\frac{k_{\text{Glycerin}}}{k_{\text{Saccharose}}} =$	3,4	5,6	3,9	5,1,	im Mittel 4,5.

Das Glycerin hat also wider Erwarten eine hohe Affinität zum Invertin.

Stellen wir die Dissoziationskonstanten zusammen, so ergibt sich:

Saccharose	$k = 0{,}0167$	oder	$\frac{1}{60}$
Fructose	$k = 0{,}058$	„	$\frac{1}{17}$
Glucose	$k = 0{,}089$	„	$\frac{1}{11}$
Mannose	$k =$ ca. $0{,}083$	„	$\frac{1}{12}$
Glycerin	$k =$ ca. $0{,}075$	„	$\frac{1}{13}$
Mannit	$k = 0{,}22$	„	$\frac{1}{4{,}5}$
Lactose . . mindestens	$k = 0{,}5$	„	$\frac{1}{2}$
(wahrscheinlich fast ∞)			

Zum Verständnis dieser Zahlen sei noch einmal darauf hingewiesen, daß ein Steigen der Dissoziationskonstante einer Abnahme der Affinität des Fermentes zu dem betreffenden

Tabelle 15.

Zeit in Minuten	Drehung	Drehungsänderung	Konzentration
I 0,0	[6,783]	0,000	Saccharose 0,166 n
0,5	6,770	0,013	
30,0	5,975	0,808	
0,0	[6,652]	0,000	Saccharose 0,166 n
0,5	6,646	0,006	
60,0	5,470	1,182	
II 0,0	[6,672]	0,000	Saccharose 0,166 n
1,0	6,650	0,022	+ Glycerin 0,111 n
30,5	6,008	0,664	
49,0	5,690	0,982	
III 0,0	[6,826]	0,000	Saccharose 0,166 n
0,5	6,813	0,013	+ Glycerin 0,453 n
30,0	6,013	0,813	
49,0	5,961	0,865	
IV 0,0	[6,789]	0,000	Saccharose 0,166 n
0,5	6,781	0,006	+ Glycerin 0,906 n
30,0	6,433	0,354	
49,0	6,321	0,466	

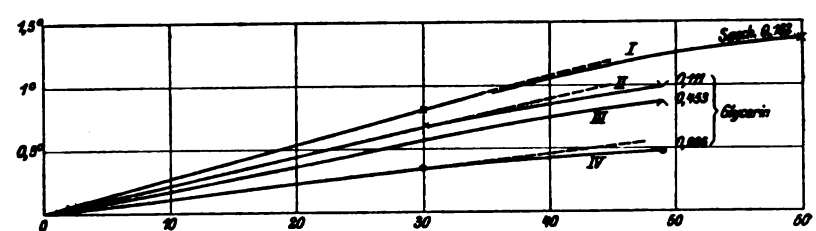


Fig. 15. Darstellung des Versuchs Tabelle 15. Einfluß von Glycerin. Versuch V ist in Tabelle 10 protokolliert.

Stoffe entspricht. Die Affinität zur Saccharose ist demnach bei weitem die größte.

War diese Dissoziationskonstante der Invertin-Zucker-Verbindung durch die Größe

$$\frac{[\text{Ferment}] \times [\text{Zucker}]}{[\text{Ferment-Zucker-Verbindung}]}$$

definiert, so können wir den reziproken Wert

$$\frac{[\text{Ferment-Zucker-Verbindung}]}{[\text{Ferment}] \times [\text{Zucker}]}$$

als die Affinitätskonstante des Fermentes zum Zucker bezeichnen. Diese ist also für

Saccharose	60
Fructose	17
Glucose	11
Mannose	ca. 12
Glycerin	13
Mannit	4,5
Lactose, Äthylalkohol	0 (d. h. nicht meßbar klein)

3. Die Reaktionsgleichung der fermentativen Rohrzuckerspaltung.

Auf Grund der Kenntnis dieser Daten sind wir nunmehr in den Stand gesetzt, das alte Problem der Reaktionsgleichung des Invertins auf rationelle Weise und ohne Zuhilfenahme von mehr als einer willkürlichen Konstanten zu lösen. V. Henri ist bisher von allen Autoren dieser Lösung am nächsten gekommen, und wir können unsere Ableitung als eine auf Grund der neuerworbenen Kenntnisse erweiterte Modifikation der Henrischen Ableitung betrachten.

Die Grundannahme dieser Ableitung ist die, daß die Zerfallsgeschwindigkeit in jedem Augenblicke der Konzentration der Saccharose-Invertin-Verbindung proportional ist und daß die Konzentration dieser Verbindung in jedem Augenblicke bestimmt wird durch die Konzentration des Fermentes, der Saccharose und der ebenfalls an das Ferment bindungsfähigen Spaltprodukte. Während aber Henri eine „Affinitätskonstante der Spaltprodukte" in die Betrachtungen einführt, operieren wir einzeln mit der Dissoziationskonstante der Saccharose-Ferment-Verbindung, $k = \frac{1}{60}$, mit derjenigen der Fructose-Ferment-Verbindung, $k_1 = \frac{1}{17}$, und mit derjenigen der Glucose-Ferment-Verbindung, $k_2 = \frac{1}{11}$.

Wir wenden außerdem folgende Bezeichnungen an:

Φ = die gesamte Fermentkonzentration,

φ = die Konzentration der Saccharose-Ferment-Verbindung,

ψ_1 = " " " Fructose-Ferment-Verbindung,

ψ_2 = " " " Glucose-Ferment-Verbindung,

S = " " " Saccharose

F = " " " Fructose

G = " " " Glucose

(zu S, F, G:) d. h. die Konzentration des betr., in freiem Zustande vorhandenen Zuckers, was aber praktisch gleich der des gesamten betr. Zuckers ist.

Da bei der Spaltung stets gleichviel Fructose und Glucose entsteht, ist G stets gleich F.

Nun ist in jedem Augenblick nach dem Massenwirkungsgesetz

$$S(\Phi-\varphi-\psi_1-\psi_2)=k\varphi \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (1)$$

$$F(\Phi-\varphi-\psi_1-\psi_2)=k_1\psi_1 \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (2)$$

$$G(\Phi-\varphi-\psi_1-\psi_2)=k_2\psi_2 \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (3)$$

Aus (1) folgt

$$\varphi=\frac{S(\Phi-\psi_1-\psi_2)}{S+k} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (4)$$

Wir können ψ_1 und ψ_2 eliminieren, indem wir zunächst durch Division von (2) und (3) finden:

$$\psi_2=\frac{k_1}{k_2}\cdot\psi_1,$$

und weiter durch Division von (1) und (3):

$$\psi_1=\frac{k}{k_1}\cdot\varphi\cdot\frac{F}{S},$$

so daß

$$\psi_1+\psi_2=k\cdot\varphi\cdot\frac{F}{S}\left(\frac{1}{k_1}+\frac{1}{k_2}\right).$$

Bezeichnen wir zunächst zur Abkürzung

$$\frac{1}{k_1}+\frac{1}{k_2}=q,$$

so ist

$$\psi_1+\psi_2=k\cdot q\cdot\varphi\cdot\frac{F}{S}.$$

Dieses ergibt, in (4) eingesetzt und nach φ aufgelöst,

$$\varphi=\Phi\cdot\frac{S}{S+k(1+qF)} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (4)$$

Nunmehr können wir zur Differentialgleichung gelangen. Ist

a die Anfangsmenge der Saccharose,

t die Zeit,

x die zur Zeit t vorhandene Menge Fructose oder Glucose, also

$a-x$ die zur Zeit t noch vorhandene Menge Saccharose,

so ist die Zerfallsgeschwindigkeit zur Zeit t definiert durch

$$v_t=\frac{dx}{dt}.$$

Nach der Annahme ist diese proportional φ, so daß unsere Differentialgleichung mit Benutzung der Gleichung (4) lautet:

$$\frac{dx}{dt} = C \cdot \frac{a - x}{a + k - x(1 - kq)} \quad . \; . \; . \; . \; . \quad (5)$$

wo C die einzige willkürliche Konstante darstellt; und zwar ist diese der Fermentmenge proportional.

Das allgemeine Integral der Gleichung ergibt sich ohne rechnerische Schwierigkeit:

$$C \cdot t = (1 - kq)\, x - k(1 + aq) \ln (a - x) + \text{konst.}$$

Zur Eliminierung der Integrationskonstanten setzen wir die entsprechende Gleichung für den Anfangszustand des Prozesses darunter, für den $x = 0$ und $t = 0$ ist:

$$0 = k(1 + aq) \ln a + \text{konst.}$$

und finden schließlich durch Subtraktion der beiden letzten Gleichungen das bestimmte Integral

$$C \cdot t = k(1 + aq) \cdot \ln \frac{a}{a - x} + (1 - kq)\, x \quad . \; . \; . \quad (6)$$

oder mit Einsetzung des Wertes für q:

$$\frac{k}{t}\left(\frac{1}{a} + \frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_2}\right) \cdot a \cdot \ln \frac{a}{a - x} + \frac{k}{t}\left(\frac{1}{k} - \frac{1}{k_1} - \frac{1}{k_2}\right) x = C.$$

Nun kann man noch k auf die rechte Seite in die Konstante einbeziehen und erhält:

$$\frac{1}{t}\left(\frac{1}{a} + \frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_2}\right) \cdot a \cdot \ln \frac{a}{a - x} + \frac{1}{t}\left(\frac{1}{k} - \frac{1}{k_1} - \frac{1}{k_2}\right) x = \text{konst.} \quad (7)$$

Für diese Funktion ist, wie für die Henrische, charakteristisch, daß sie sich durch Superposition einer geradlinigen und einer logarithmischen Funktion ergibt, von dem Typus

$$m \cdot \ln \frac{a}{a - x} + n \cdot x = t \cdot \text{konst.} \quad . \; . \; . \; . \quad (8)$$

wo m und n die aus der vorigen Gleichung ersichtliche Bedeutung haben: es sind Faktoren, deren Größen von der einzelnen Dissoziationskonstanten und der Anfangsmenge des Zuckers bestimmt werden.

Setzen wir die für die Versuchstemperatur von 25° von uns ermittelten Werte von k, k_1 und k_2 ein, so wird

$$\frac{1}{t}(1+28a)\cdot 2{,}303 \log^{10}\frac{a}{a-x}+\frac{1}{t}\cdot 32\cdot x = \text{konst.} \quad (9)$$

Statt $\log\frac{a}{a-x}$ schreiben wir für die Rechnung einfacher $-\log\left(1-\frac{x}{a}\right)$.

Diese Konstante muß der Fermentkonzentration proportional sein. Daß sie es ist, geht aus allen früheren Untersuchungen hervor, und im besonderen wurde von L. Michaelis und H. Davidsohn (l. c. S. 398—400) gezeigt, daß eine Gleichung der Form

$$\text{Fermentmenge} \times \text{Zeit} = f(a, x) \quad . \; . \; . \; . \; (10)$$

streng zutrifft. Die noch unbestimmt gelassene Funktion der rechten Seite dieser Gleichung findet durch unsere Gleichung (8) eine feste Form, sonst wird nichts geändert, und man sieht durch Vergleichung von (8) und (10) ohne weiteres, daß die Konstante der Gleichung (8) der Fermentkonzentration proportional sein muß.

Ist es also überflüssig, die Richtigkeit der Gleichung (9) bei wechselnder Fermentmenge nochmals zu prüfen, so muß doch noch geprüft werden, ob diese Konstante bei gleicher Fermentmenge, aber wechselnder Zuckermenge die gleiche bleibt, und ob sie überhaupt innerhalb eines einzelnen Versuchs unabhängig von der Zeit ist.

Wir verwenden dazu die Versuchsserie I und müssen für diesen Zweck erst die Werte von x, die wir bisher in willkürlichen polarimetrischen Maßeinheiten darstellten, in Mole umrechnen. Wir bedienen uns dabei der Voraussetzung, daß die theoretische Schlußdrehung einer Saccharoselösung, die zu Anfang m° drehte, = — 0,313 m° beträgt. (Vgl. Sörensen, l. c., S. 262.)

Zeit (t)	$\frac{x}{a}$	K	Mittel
	I. Saccharose 0,333 n.		
7	0,0164	0,0496	
14	0,0316	0,0479	
26	0,0528	0,0432	
49	0,0923	0,0412	
75	0,1404	0,0408	
117	0,2137	0,0407	
1052	0,9834	[0,0498]	0,0439

Zeit (t)	$\frac{x}{a}$	K	Mittel
	II. Saccharose 0,1667 n.		
8	0,0350	0,0444	
16	0,0636	0,0446	
28	0,1080	0,0437	
52	0,1980	0,0444	
82	0,3000	0,0445	
103	0,3780	0,0454	0,0445
	III. Saccharose 0,0833 n.		
49,5	0,352	0,0482	
90,0	0,575	0,0447	
125,0	0,690	0,0460	
151,0	0,766	0,0456	
208,0	0,900	0,0486	0,0465
	IV. Saccharose 0,0416 n.		
10,25	0,1147	0,0406	
30,75	0,3722	0,0489	
61,75	0,615	0,0467	
90,75	0,747	0,0438	
112,70	0,850	0,0465	
132,70	0,925	0,0443	
154,70	0,940	0,0405	
1497,00	0,972	[0,0514]	0,0445
	V. Saccharose 0,0208 n.		
17	0,331	0,0510	
27	0,452	0,0464	
38	0,611	0,0500	
62	0,736	0,0419	
95	0,860	[0,0388]	
1372	0,990	[0,058]	0,0474
	Durchschnittliches Mittel: **0,0454.**		

Die Konstante ist in allen Versuchen so übereinstimmend und zeigt abgesehen von den leichten Schwankungen keinerlei „Gang“, weder mit der Zeit noch mit der Zuckerkonzentration, daß wir sie als befriedigend konstant betrachten können.

Zusammenfassung.

Der Gang der Invertinwirkung auf Saccharose wird unter folgenden Annahmen verständlich:

Saccharose verbindet sich mit Invertin zu einer Verbindung, deren Dissoziationskonstante gleich 0,0167 ist.

Diese Verbindung ist labil nach der Gleichung

1 Mol Sacch.-Invertin-Verbind. ⟶ 1 Mol Fructose + 1 Mol Glucose + 1 Mol Invertin.

Invertin hat auch zu den Spaltprodukten, Fructose und Glucose, sowie auch zu einigen anderen höheren Alkoholen (Mannit, Glycerin) und Kohlenhydraten, bemerkenswerterweise aber nicht zum Milchzucker, eine Affinität, die jedoch viel kleiner als die zur Saccharose ist. Diese Verbindungen sind nicht labil, sie führen daher nicht zu einer chemischen Spaltung der Fructose usw., sondern manifestieren sich nur in der hemmenden Wirkung der Fructose usw. auf den Saccharose-Invertin-Prozeß.

Die Konzentration aller dieser Verbindungen läßt sich nach dem Massenwirkungsgesetz berechnen und für jede derselben die Dissoziationskonstante ziemlich genau angeben, am genauesten für die Saccharose-Invertin-Verbindung.

Da die Zersetzung der Saccharose-Invertin-Verbindung eine monomolekulare Reaktion sein muß, so ist die jeweilige Zersetzungsgeschwindigkeit der Saccharose einfach proportional der Konzentration der Saccharose-Invertin-Verbindung.

Aus allen diesen Annahmen läßt sich eine Differentialgleichung für den Gang der Saccharosespaltung ableiten, deren Integral sich den Beobachtungen gut anschließt.

Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Calciums im Serum.

Von

P. Rona und D. Takahashi.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 4. Februar 1913.)

Die Löslichkeit der Carbonate ist eine Funktion des Gehaltes der Lösung an freier Kohlensäure und an Gesamtkohlensäure. In den physiologischen Flüssigkeiten mit einer der neutralen naheliegenden Reaktion können die Carbonate nur in Form von Hydrocarbonat vorhanden sein[1]). Da das Verhältnis der freien Kohlensäure zum Hydrocarbonat die Konzentration der H-Ionen in der betreffenden Flüssigkeit nach der Gleichung

$$[H^{\cdot}] = k \frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3']} \quad . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \quad (1)$$

(in welcher *k* eine nur von der Temperatur abhängige Konstante bedeutet) eindeutig bestimmt, so kann die Löslichkeit auch als abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration und der Konzentration an Bicarbonation betrachtet werden. Wir wollen in folgendem die Löslichkeitsverhältnisse des Calciums in einer freie Kohlensäure und Bicarbonat (Hydrocarbonat) enthaltenden Flüssigkeit untersuchen; dies können wir unter Benutzung der aus dem Massenwirkungsgesetz folgenden Gleichung (2) tun:

$$k_1 = \frac{[Ca^{\cdot\cdot}][HCO_3']^2}{[H_2CO_3]} \quad . \ . \ . \ . \ . \ . \quad (2)$$

---

[1]) Selbst die alkalischsten Flüssigkeiten des Organismus, der Pankreas- und der Darmsaft, verdanken nach Untersuchungen von Fr. Auerbach und E. Pick ihre alkalische Reaktion ausschließlich dem Gehalt an Hydrocarbonat ($NaHCO_3$). Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte **43**, 155, 1912.

deren einzelne Daten experimentell festgestellt werden können[1]). Da in Flüssigkeiten mit nur sehr niedriger Konzentration an freier Kohlensäure ihre Bestimmung mit einem relativ großen analytischen Fehler behaftet sein konnte, so schien es vorteilhafter für die genaue Feststellung der Gleichgewichtskonstante unter Heranziehung der Gleichung (1) die Gleichung (2) folgendermaßen umzuformen:

$$k_2 = \frac{k_1}{k} = \frac{[Ca^{\cdot\cdot}][HCO_3']}{[H^{\cdot}]} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \quad (3)$$

Diese Gleichung bietet den großen Vorteil, daß zur Bestimmung der Konstante neben der Bestimmung des Calcium- und des Bicarbonatgehaltes nur noch eine solche der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration ausgeführt werden muß, was elektrometrisch, mittels Konzentrationsketten, schon an sehr geringen Flüssigkeitsmengen mit großer Genauigkeit erfolgen kann.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß in längere Zeit gewässerten und ausgedampften Flaschen Lösungen von Natriumbicarbonat (zu 2,5 bis 5 $^0/_{00}$) mit einer Lösung von Calciumchlorid von bekanntem Calciumgehalt, die außerdem wechselnde Mengen von 0,1 n-Salzsäure enthielt, versetzt und sofort mit einer hohen Schicht flüssigen Paraffins überschichtet wurden. Die Flüssigkeit wurde mit dem ausgefallenen Bodenkörper 2 Tage lang im Schüttelapparat in der sorgfältig verschlossenen Flasche geschüttelt und dann noch 7 bis 10 Tage lang bei der wenig schwankenden Temperatur des Laboratoriums (18^0) stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde unter Paraffinabschluß die über dem Bodenkörper stehende klare Flüssigkeit abgehebert, in einer Probe elektrometrisch die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration[2]), in je 100 ccm der Calciumgehalt und in mehreren Proben die Gesamtkohlensäure und die Hydrocarbo-

---

[1]) Vgl. hierzu auch G. Bodländer, Zeitschr. f. physikal. Chem. 35, 23, 1900.

[2]) Eine Berechnung der H-Ionenkonzentration aus der Menge des $NaHCO_3$ und der zugefügten HCl ist nicht angängig, da die Reaktion infolge Ausscheidung des $CaCO_3$ nach der sauren Seite hin verschoben wird. Die elektrometrische Messung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration erfolgte nach den methodischen Angaben von L. Michaelis u. Davidoff, diese Zeitschr. 46, 139. Benutzt wurde die in der Fußnote daselbst beschriebene Elektrode (S. 138).

natmenge bestimmt. Das Calcium wurde als Oxalat gefällt und als CaO gewogen. Zur Bestimmung der Gesamtkohlensäure wurden je 20 ccm mit Bariumchlorid und mit überschüssigem, genau abgemessenem Barytwasser von bekanntem Titer versetzt und der Überschuß mit 0,1 n-Salzsäure und Phenolphthalein zurücktitriert; die Bicarbonatkohlensäure wurde in gleichen Mengen der Flüssigkeit mittels $^n/_{10}$-Salzsäure und Methylorange bestimmt. Aus der Differenz beider Werte erhält man den der freien Kohlensäure.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

	Gehalt an					k_1	k_2
	Bicarbonat Mol/l	Freie CO_2 Mol/l	$[H^{\cdot}]$ gemessen	$[H^{\cdot}]$ berechnet[1])	Ca Mol/l		
1	0,017	0,012	$2{,}24 \cdot 10^{-7}$	$2{,}43 \cdot 10^{-7}$	0,00493	118.10^{-6}	375
2	0,032	0,029	$2{,}9 \cdot 10^{-7}$	$3{,}0 \cdot 10^{-7}$	0,00357	$126 \cdot 10^{-6}$	393
3	0,017	0,009	$1{,}6 \cdot 10^{-7}$	$1{,}7 \cdot 10^{-7}$	0,00344	$110 \cdot 10^{-6}$	361
4	0,0166	0,0107	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$	$2{,}1 \cdot 10^{-7}$	0,00435	$112 \cdot 10^{-6}$	368
5	0,0169	—	$1{,}78 \cdot 10^{-7}$	—	0,00335	—	320
6	0,0177	0,0080	$1{,}6 \cdot 10^{-7}$	$1{,}5 \cdot 10^{-7}$	0,00320	$122 \cdot 10^{-6}$	341
7	0,0170	0,0067	$1{,}3 \cdot 10^{-7}$	$1{,}31 \cdot 10^{-7}$	0,00246	$106 \cdot 10^{-6}$	322
8	0,0425	—	$0{,}9 \cdot 10^{-7}$	—	0,00073	—	344
9	0,0249	—	$0{,}74 \cdot 10^{-7}$	—	0,00114	—	366
10	0,0247	—	$0{,}66 \cdot 10^{-7}$	—	0,0009	—	355
11	0,0152	—	$0{,}93 \cdot 10^{-7}$	—	0,00203	—	331
12	0,015	—	$1{,}08 \cdot 10^{-7}$	—	0,00228	—	320

Man erhält demnach für k_1 im Mittel $116 \cdot 10^{-6}$, für k_2 im Mittel den Wert 350 (bei 18°)[2]). Da nur wenige Milligramm CaO jeweilig zur Wägung gelangen, ferner die Löslichkeit des Calciumsalzes schon durch geringe Änderung der $H^{\cdot}$- und HCO_3-

[1]) Aus den Daten über freie Kohlensäure und Bicarbonat der beiden vorangehenden Spalten nach der Formel (1), wobei die $[HCO_3']$ aus der Menge des analytisch bestimmten Bicarbonats durch Multiplikation mit 0,9 ermittelt wurde.

[2]) Vgl. hierzu A. A. Seyler und P. V. Lloyd, Journ. Chem. Soc. London **95**, 1347, 1909 wie auch H. N. McCoy und H. J. Smith, Journ. Amer. Chem. Soc. **33**, 468, 473, 1911. Bei der Berechnung der Konstanten wurde die elektrolytische Dissoziation des Calciumbicarbonats in erster Annäherung als total angenommen, da der dadurch gemachte Fehler bei der hohen Verdünnung des Calciumbicarbonats und für den vorliegenden Zweck der Untersuchung nicht ins Gewicht fällt. Für $[H^{\cdot}]$ wurden stets die direkt gemessenen Werte genommen.

Konzentration stark beeinflußt wird, so daß schon geringe Fehler in diesen Bestimmungen bei der Berechnung der Werte der Konstanten deutlich zum Ausdruck kommen, kann die Übereinstimmung der betreffenden Werte als befriedigend betrachtet werden.

Bestimmen wir auf Grund der so gewonnenen Daten die Löslichkeit des Calciumbicarbonates in einer Flüssigkeit, deren Konzentration an $H^{\cdot}$-Ionen wie an Bicarbonaten der des Blutserums entspricht, d. h. eine $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration von ca. $0{,}3 \cdot 10^{-7}$ und eine Bicarbonationenkonzentration von rund 0,02 n, so bekommen wir für das gelöste Ca in CaO ausgedrückt für 100 ccm den Wert von 0,00294 g, also rund 3 mg.

Tatsächlich ist aber im Serum über das fünffache dieses Wertes an CaO vorhanden; so fanden wir z. B. in einer größeren Reihe von Versuchen an Pferdeserum in 100 ccm etwa 0,0170 g CaO.

Um Anhaltspunkte zu gewinnen über die Form, in welcher diese Menge Calciumsalz im Serum vorhanden ist, wurden Versuche angestellt, bei denen Pferdeserum gegen eine calciumfreie Außenflüssigkeit dialysierte, die aus einer physiologischen Kochsalzlösung mit etwa $1{,}5\,^0/_{00}$ Natriumbicarbonat bestand. Da in diesen Versuchen die $H^{\cdot}$-Ionen, wie auch die Bicarbonatkonzentration, nach Beendigung der Dialyse, in $1\,^1/_2$ bis $2\,^1/_2$ Tagen, gleich den entsprechenden Konzentrationen im Serum sein mußten — was durch direkte Bestimmung der $H^{\cdot}$- und $HCO_3{}'$-Konzentration in der Außenflüssigkeit auch festgestellt wurde —, so war die Möglichkeit vorhanden, daß Innen- und Außenflüssigkeit ihrem Löslichkeitsverhältnis für Calcium entsprechend im Diffusionsgleichgewicht stehen würden. Das würde bedeuten, daß der hohe Gehalt von etwa $0{,}017\,^0/_0$ CaO im Serum mit einem nur geringen von etwa $0{,}003\,^0/_0$ in der Außenflüssigkeit in Gleichgewicht wäre, wie etwa bei der Verteilung einer Substanz auf zwei nicht mischbare Lösungsmittel von ungleicher Löslichkeit, wobei die Trennung der beiden Medien im Versuch durch die für die Eiweißkörper des Serums impermeable Dialysiermembran hergestellt wird.

Die Versuche zeigten jedoch, daß die Verhältnisse anders liegen. Obgleich die Außenflüssigkeiten nach Beendigung der Dialyse durchschnittlich eine $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration von $0{,}3 \cdot 10^{-7}$

und eine Bicarbonationenkonzentration von 0,02 n hatten, betrug der CaO-Gehalt in der Außenflüssigkeit 0,007 bis 0,008 $^0/_0$, also mehr als die doppelte Menge der erwarteten, während der CaO-Gehalt der Innenflüssigkeit durchschnittlich zu etwa 0,01 $^0/_0$ gefunden worden ist.

In den Versuchen dialysierten 100 ccm Serum gegen 100 ccm Außenflüssigkeit bei Zimmertemperatur $1\,^1/_2$ bis $2\,^1/_2$ Tage. Nach Beendigung der Dialyse wurde ein Teil der wasserklaren Außenflüssigkeit zur H˙-Ionenbestimmung, ein anderer zur Bestimmung des Bicarbonatgehaltes benutzt, ferner wurden in 50 ccm der filtrierten Lösung nach der Veraschung das Ca als CaO bestimmt. In 50 ccm der Innenflüssigkeit wurde nach der Veraschung ebenfalls das Calcium bestimmt.

Die Ergebnisse der Untersuchung sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben:

	CaO-Gehalt in $^0/_0$		[H˙]	[HCO_3']
	Innenflüssigkeit	Außenflüssigkeit	in der Außenflüssigkeit	
1	0,0110	0,0070	—	—
2	0,0100	0,0068	—	—
3	0,0102	0,0082	$0{,}29 \cdot 10^{-7}$	0,020
4	0,0108	0,0084	$0{,}30 \cdot 10^{-7}$	0,023
5	0,0104	0,0080	$0{,}22 \cdot 10^{-7}$	0,022
6	0,0102	0,0076	$0{,}22 \cdot 10^{-7}$	0,023
7	0,0106	0,0088	$0{,}30 \cdot 10^{-7}$	0,021

Aus diesen Versuchen kann gefolgert werden, daß, falls der geeignete Bodenkörper fehlt, unter den im Serum vorhandenen Bedingungen der H˙- und HCO_3-Konzentration das Calciumhydrocarbonat übersättigte Lösungen von großer Beständigkeit zu bilden befähigt ist. Auch direkte Versuche zeigen dies.

Wurden Lösungen hergestellt, die an $NaHCO_3$ 0,02 bis 0,03 n, an HCl 0,002 n waren, ferner eine ca. 0,165 g CaO entsprechende Menge $CaCl_2$ auf 100 ccm der Lösung enthielten (mit einer H˙-Ionenkonzentration von $0{,}23 \cdot 10^{-7}$ bis $0{,}35 \cdot 10^{-7}$) und ließ man die Flüssigkeit in sorgfältig verschlossenen Flaschen 7 bis 10 Tage bei 18^0 stehen, so konnte man nach Ablauf dieser Zeit keinen oder nur einen minimalen, analytisch kaum bestimmbaren Niederschlag von Calciumcarbonat erhalten. In Berührung mit dem (entsprechenden) Bodenkörper ist also, wie zu erwarten, die Löslichkeit bedeutend geringer, als wenn ein

solcher fehlt; aber auch im ersteren Falle wird die Löslichkeit des Calciumcarbonats bzw. -bicarbonats je nach der Korngröße des Bodenkörpers, wie der allotropen Modifikationen desselben, sowie je nach Anwesenheit von anderen Elektrolyten, große Mannigfaltigkeit aufweisen[1]). Auf alle Fälle ist die Neigung zu übersättigten Lösungen eine sehr große, die bei den im Serum vorliegenden Verhältnissen unter dem Schutze der Eiweißkörper noch erhöht werden wird. Selbstverständlich werden solche übersättigten, aber beständigen Lösungen im Serum noch leichter entstehen können als in den die Verhältnisse im Serum gewissermaßen nachahmenden „anorganischen“ Lösungen; andererseits könnten sie auch die Ausscheidung der schwerlöslichen Calciumsalze in manchen pathologischen Zuständen dem Verständnis näher bringen[2]). Jedenfalls werden wir nach unseren Befunden die für das Serum in Frage kommende Menge von Calciumhydrocarbonat als frei diffusibel annehmen müssen.

II. In Übereinstimmung mit früheren Befunden wurde auch diesmal nicht die gesamte im Serum vorhandene Calciummenge als diffusibel gefunden. Es ist naheliegend, den nicht diffusiblen Teil auf Eiweißcalciumverbindungen zurückzuführen, doch muß in dieser Richtung auch das Verhalten der schwerlöslichen Calciumphosphate geprüft werden. Da bei der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des Serums Tricalciumphosphat nicht angenommen werden kann, käme hier wohl nur das sekundäre Phosphat $CaHPO_4$ in Betracht. Nehmen wir als Grundlage

---

[1]) Über die komplizierten Verhältnisse bei der Ausscheidung von kohlensaurem Kalk aus Bicarbonatlösungen vgl. namentlich B. Vetter, Zeitschr. f. Krystallographie 48, 45, 1910. Über die verschiedenen Modifikationen des $CaCO_3$ vgl. O. Bütschli, Abh. d. k. Ges. d. Wiss. zu Göttingen [2] 6, 1908. Von anderen Arbeiten über die Löslichkeit des Calciumhydrocarbonats bzw. Carbonats, bei denen jedoch meist auf die H-Ionenkonzentration der Flüssigkeit keine Rücksicht genommen wurde, seien die folgenden erwähnt: Th. Schlösing, Compt. rend. 74, 1552; 75, 78, 1872. — Frank K. Cameron und Atherton Seidell, Journ. of Physical. Chem. 6, 50, 1902. — W. Meigen, Jahrb. f. Mineral. 1903, II, 19. — E. Hatschek, Chem.-Zeitg. 33, 49, 1909. — Pauli und Sameo, diese Zeitschr. 17, 235, 1909. — W. Oechsner de Coninck, Bull. Acad. roy. Belg. 1910, 266. — H. Ehlert und W. Hempel, Zeitschr. f. Elektrochem. 18, 727. — J. Kendall, Phil. Mag. [6] 23, 958, 1912.

[2]) Über die Ablagerung und Resorption von Kalksalzen in den Geweben vgl. Fr. Hofmeister, Ergebn. d. Physiologie 10, 429, 1910.

für das undiffusible Calcium die Menge an, die mittels der Kompensationsdialyse in mehreren Versuchen gefunden wurde, d. i. 0,0042 g Ca in 100 ccm Pferdeserum, so müßte, falls diese Menge als Dicalciumphosphat im Serum vorhanden wäre, 0,0032 g P, d. i. 0,0072 g P_2O_5 als nicht diffusibel gefunden werden. Da nach einer Reihe von Bestimmungen die Gesamtmenge des anorganischen Phosphors als P_2O_5 in 100 ccm Pferdeserum etwa 0,008 g beträgt, müßte sich nach der obigen Annahme mittels der Kompensationsdialyse fast der gesamte Teil der Phosphate als nicht diffusibel dokumentieren. Aber auch, wenn nur ein Bruchteil des undiffusiblen Calciums in Form unlöslicher bzw. schwer löslicher Phosphate, etwa als Suspension, im Serum vorhanden ist, wird, falls dieser Bruchteil nicht zu gering ist (etwa 10 bis 15 %, überschreitet), die Kompensationsdialyse darüber Aufklärung geben können.

Wie in früheren Versuchen wurden 70 ccm Pferdeserum als Innenflüssigkeit gegen 50 ccm physiologische Kochsalzlösung mit genau bekanntem Phosphatgehalt dialysiert. Zur Herstellung der Phosphatlösung wurde ein Gemisch von primärem und sekundärem Natriumphosphat (1 : 7; $^m/_8$) benutzt. Die Bestimmung des Phosphors geschah in allen Versuchen nach der Methode von Neumann.

Versuch 1.

% P_2O_5 in der Außenflüssigkeit.

	Sofort	Nach 40 Std.	Nach 50 Std.
I	0,0085	0,0082	0,0083
II	0,0074	0,0077	0,0078
III	0,0068	0,0074	0,0076

In I nahm der P_2O_5-Gehalt der Außenflüssigkeit ein wenig ab, in II ein wenig zu. Die Menge des diffusiblen P muß demnach zwischen beiden Werten, zwischen 0,0085 und 0,0074 % P_2O_5 liegen. Eine nach der in einer früheren[1]) Arbeit mitgeteilten Gleichung angestellte Berechnung ergibt für das diffusible P_2O_5 folgende Werte: in I 0,0080 und 0,0082, in II 0,0079 und 0,0080, in III 0,0077 und 0,0082, im Durchschnitt 0,0080 % P_2O_5.

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 31, 336.

Gefunden wurde im Serum an Gesamt-P_2O_5 0,0210%; davon Lecithinphosphor (als P_2O_5) 0,0120%, Nucleinphosphor (als P_2O_5) 0,0012%. Anorganisches Phosphat demnach 0,0078% P_2O_5.

Versuch 2.

% P_2O_5 in der Außenflüssigkeit.

	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
I	0,0245	0,0164	0,0152
II	0,0118	0,0095	0,0093
III	0,0061	0,0067	0,0067

In I nahm der P_2O_5-Gehalt der Außenflüssigkeit stark, in II ein wenig ab, in III zu. Die Menge des diffusiblen P liegt demnach zwischen 0,0093 und 0,0067% P_2O_5. (Nach der Berechnung bei 0,0078% P_2O_5.)

Gefunden wurde im Serum 0,0205% Gesamt-P_2O_5; davon 0,0013% Nuclein-P_2O_5 und 0,0108% Lecithin-P_2O_5, demnach 0,0084% anorganisches P_2O_5.

Versuch 3.

% P_2O_5 in der Außenflüssigkeit.

	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
I	0,0245	0,0150	0,0149
II	0,0118	0,0092	0,0091
III	0,0061	0,0067	0,0070

In I nahm der P_2O_5-Gehalt der Außenflüssigkeit stark, in II ein wenig ab, in III zu. Die Menge des diffusiblen P liegt demnach zwischen 0,0091 und 0,0070% P_2O_5, etwa bei 0,0080%. (Nach der Berechnung bei 0,0075% P_2O_5.)

Gefunden wurde im Serum an Gesamt-P_2O_5 0,0201%; davon Lecithinphosphor (als P_2O_5) 0,0113%, Nucleinphosphor (als P_2O_5) 0,0013, demnach anorganischer Phosphor (als P_2O_5) 0,0075%.

Versuch 4.

% P_2O_5 in der Außenflüssigkeit.

	Sofort	Nach 56 Std.	Nach 63 Std.
I	0,0099	0,0097	0,0098
II	0,0085	0,0095	0,0096
III	0,0074	0,0090	0,0091

In I ist der P_2O_5-Gehalt der Außenflüssigkeit (fast) gleich geblieben, in II und III nahm er zu. Die Menge des diffusiblen P beträgt demnach etwa 0,0099 % (als P_2O_5).

Gefunden wurde im Serum an Gesamtphosphor (P_2O_5) 0,0245 %; davon Lecithinphosphor (als P_2O_5) 0,0130 %, Nucleinphosphor (als P_2O_5) 0,0011 %, demnach anorganischer Phosphor (als P_2O_5) 0,0104 %.

Versuch 5.

% P_2O_5 in der Außenflüssigkeit.

	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
I	0,0097	0,0097	0,0096
II	0,0085	0,0091	0,0089
III	0,0068	0,0083	0,0086

In I ist der P_2O_5-Gehalt der Außenflüssigkeit gleich geblieben, in II und III nahm er zu. Die Menge des diffusiblen P beträgt demnach etwa 0,0097 % P_2O_5.

Gefunden wurde im Serum an Gesamtphosphor 0,0260 % P_2O_5; davon Lecithinphosphor 0,0140 % P_2O_5, Nucleinphosphor 0,0012 % P_2O_5, demnach anorganischer Phosphor 0,0107 % P_2O_5.

Versuch 6.

% P_2O_5 in der Außenflüssigkeit.

	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
I	0,0115	0,0107	0,0099
II	0,0095	0,0094	0,0094
III	0,0085	0,0090	0,0093

In II ist der P_2O_5-Gehalt der Außenflüssigkeit gleich geblieben, in I nahm er ab, in III zu. Die Menge des diffusiblen P beträgt demnach etwa 0,0094 % P_2O_5.

Gefunden wurde im Serum an Gesamtphosphor 0,0260 % P_2O_5; davon Lecithinphosphor 0,0140 % P_2O_5, Nucleinphosphor 0,0012 % P_2O_5, demnach anorganischer Phosphor 0,0107 % P_2O_5.

Versuch 7.

% P_2O_5 in der Außenflüssigkeit.

	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
I	0,0118	0,0104	0,0095
II	0,0061	0,0064	0,0065
III	0,0051	0,0062	0,0066

In I nahm der P_2O_5-Gehalt der Außenflüssigkeit ab, in II und III zu. Die Menge des diffusiblen P liegt demnach zwischen 0,0188 und 0,0065% P_2O_5; nach der Berechnung bei 0,0073%.

Gefunden wurde im Serum an Gesamtphosphor 0,0201% P_2O_5; davon Lecithinphosphor 0,0113% P_2O_5, Nucleinphosphor 0,0013% P_2O_5, demnach anorganischer Phosphor 0,0075% P_2O_5.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß eine irgendwie nennenswerte Menge Phosphat in nicht diffusibler Form nicht angenommen werden kann. In keinem der Versuche übersteigt die Gesamtmenge der anorganischen Phosphate die als diffusibel gefundenen in einem Grade, die nicht innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegen würde; in einigen herrscht sogar vollkommene Übereinstimmung.

Hierdurch gewinnt die Annahme von nicht diffusiblen Eiweißcalciumverbindungen im Serum eine noch sicherere Unterlage[1]), und wir werden kaum fehlgehen, wenn wir den nicht diffusiblen Anteil des Calciums hauptsächlich auf Rechnung dieser Verbindung setzen. Nach der Feststellung, daß das Calcium im Serum, trotz seiner besonderen Löslichkeitsverhältnisse, zum größten Teil in Form anorganischer, echt gelöster, diffusibler Salze vorhanden ist, wäre es wenig plausibel, die gefundene geringe, nicht diffusible Menge auch auf anorganische Salze zu beziehen. Zweierlei Formen von Calciumbicarbonat im Serum, eine wirklich gelöste, diffusible und eine kolloidal in Lösung gehaltene, nicht diffusible, anzunehmen, wäre schon deshalb gekünstelt, da die Annahme einer Calciumeiweißverbindung in Anbetracht der sauren Natur der Eiweißkörper und der bekannten Neigung der Calciumsalze zu wenig dissoziierten Verbindungen, eine wohlbegründete ist.

Zusammenfassung.

Es wurde die Löslichkeit des Calciums in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoff- und der Bicarbonatkonzentration unter-

[1]) In Betracht kämen noch für einen Teil des nicht diffusiblen Calciums die sehr schwer löslichen fettsauren Calciumsalze. Bei den äußerst geringen Mengen der in Frage kommenden Seifen im Serum dürfte jedoch eine genaue quantitative Prüfung dieses Punktes auf große Schwierigkeiten stoßen.

sucht. Nach dem Massenwirkungsgesetz bestehen die Gleichungen $\frac{[Ca^{\cdot\cdot}][HCO_3']^2}{[H_2CO_3]} = k_1$, und $\frac{[Ca^{\cdot\cdot}][HCO_3']}{[H^{\cdot}]} = k_2$. Der Wert von k_1 wurde im Mittel zu $116 \cdot 10^{-6}$, der von k_2 im Mittel zu 350 gefunden (bei 18°). Aus diesen Daten, wie aus Dialysenversuchen ergab sich, daß das Calciumhydrocarbonat im Serum in frei diffusibler Form zugegen ist und daß es daselbst metastabile, übersättigte Lösungen bildet. Nach den Ergebnissen der Kompensationsdialyse ist auch die Gesamtmenge der Phosphate als frei diffusibel anzusehen, so daß die Annahme, daß für das nicht diffusible Calcium hauptsächlich Eiweißcalciumverbindungen in Betracht kommen, wohl berechtigt erscheint.

Über die Sauerstoffabsorption durch die Atmungschromogene der Pflanzen.

Von

W. Palladin und Z. Tolstaja.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität St. Petersburg.)

(Eingegangen am 6. Februar 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Einer der Verfasser[1]) war in bezug auf die während der Atmung der Pflanzen vor sich gehenden Prozesse zu nachstehenden Schlüssen gelangt:

1. Die anaerobe Oxydation (früher Zersetzung) der Glucose und die weitere Oxydation der Produkte des anaeroben Zerfalles der Glucose geht auf Kosten des Wassers vor sich, und zwar in der Weise, daß der in der Glucose enthaltene Kohlenstoff zum Teil durch den in der Glucose enthaltenen Sauerstoff oxydiert wird, zum Teil aber durch den Sauerstoff des Wassers.

2. Der gesamte durch die Pflanzen aus der Luft absorbierte Sauerstoff wird ausschließlich auf die Oxydation des Wasserstoffes verwendet, und zwar sowohl des in der Glucose enthalten gewesenen, wie auch des Wasserstoffes, der von dem Wasser zurückblieb, nachdem der Kohlenstoff der Zerfallsprodukte der Glucose durch dasselbe oxydiert worden war. Eine übereinstimmende Ansicht war schon früher von Bach und Battelli[2]) ausgesprochen worden: „L'acide carbonique est toujours éliminé par dédoublement, jamais par oxydation directe. Dans l'oxydation, l'oxygène se porte sur l'hydrogène, jamais sur le carbone."

3. Die Entnahme des Wasserstoffes von den während der Anaerobiose gebildeten reduzierten Stoffe erfolgt unter Teilnahme der Atmungspigmente, die dabei Chromogene (Leuko-

[1]) W. Palladin, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 91, 1912.

[2]) A. Bach und Battelli, Compt. rend., 2. Juni 1903.

körper) ergeben. Die Chromogene geben ihren Wasserstoff an den Sauerstoff der Luft ab, indem sie gleichzeitig Wasser bilden.

$$RH_2 + O = R + H_2O.$$

Schon in dem ersten (anaeroben) Stadium der Atmung bereitet sich die Entfernung des Wasserstoffes vor.

Vergleichen wir die Formel der d-Glucose

$$\begin{array}{ccccccccccc} & & & OH & & H & & OH & & OH & \\ O & & & | & & | & & | & & | & \quad H \\ & \gg C & - & C & - & C & - & C & - & C & - C \leftarrow H \\ H & & & | & & | & & | & & | & \quad OH \\ & & & H & & OH & & H & & H & \end{array}$$

mit der Formel des sich nach C. Neuberg und Kostytschew bei der alkoholischen Gärung als Zwischenprodukt bildenden Acetaldehyds

$$\begin{array}{c} H \\ H \\ H \end{array} \!\!> C - C \begin{array}{l} H \\ \\ O \end{array}$$

so sehen wir, daß bei der alkoholischen Gärung eine Übertragung des Sauerstoffes von dem Wasserstoff nach dem Kohlenstoff stattfindet[1]).

Palladin gab nachstehendes Schema für die Atmung:

Anaerobes Stadium:

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12R = 6CO_2 + 12RH_2.$$

Aerobes Stadium:

$$12RH_2 + 6O_2 = 12H_2O + 12R.$$

Die Bildung reduzierter Stoffe während der Anaerobiose erfolgt unter Anteilnahme eines besonderen Fermentes, der Redukase[2]) (oder Dehydrogenase, nach Wieland).

Die Rolle der Redukase in dem Prozesse der alkoholischen Gärung war durch Palladin[3]) auf Grund der Reduktion der Selensalze und des Methylenblaus nachgewiesen worden und hierauf durch Chowrenko[4]) nach der Menge des sich während der alkoholischen Gärung aus der eingeführten Schwefelblüte bildenden Schwefelwasserstoffes.

Kostytschew[5]) gelangte auf Grund theoretischer Be-

---

1) F. Hoppe-Seyler, Arch. f. d. ges. Physiol. **12**, 8, 1876.
2) A. Bach, diese Zeitschr. **31**, 443, 1911; **33**, 282, 1911.
3) W. Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **56**, 81, 1908.
4) M. A. Chowrenko, ibidem **80**, 253, 1912.
5) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 130, 359, 1912.

trachtungen ebenfalls zu dem Schlusse, daß die Redukase an der alkoholischen Gärung teilnimmt.

Die hier angeführten Schlußfolgerungen Palladins haben in den bald darauf erschienenen ausgezeichneten Untersuchungen von Wieland[1]) ihre Bestätigung gefunden. Dieser Autor bewies die Möglichkeit einer Oxydation von Aldehyden bei Ausschluß von Sauerstoff zu der entsprechenden Säure mit Hilfe des Wassers. Dabei wird zuerst ein Hydrat gebildet

$$R.COH + H_2O = R.HC\begin{cases}OH\\OH\end{cases}$$

„Wenn man feuchten Aldehyd bei Ausschluß von Luft mit Palladiumschwarz schüttelt, so erhält man Säure und Wasserstoff, letzteren an Palladium gebunden:

$$R.HC\begin{cases}OH\\OH\end{cases} \longrightarrow R.C\begin{cases}O\\OH\end{cases} + H_2.$$

Läßt man jetzt Luft zutreten, so wird der Wasserstoff verbrannt und die Dehydrierung des Aldehydhydrates kann weitergehen. Die Rolle des Luftsauerstoffs können hier auch Benzochinon, Methylenblau oder andere chinoide Verbindungen übernehmen." „Es ergab sich, daß trockenes Silberoxyd mit wasserfreiem Acetaldehyd überhaupt nicht reagiert, während bei Gegenwart von Wasser sofort kräftige Oxydation einsetzt. Außerdem ließ sich beim Vergleich eines isolierbaren und beständigen Hydrats, des Chloralhydrats, mit dem Chloral direkt die Probe aufs Exempel machen. Das Hydrat zeigte sich dabei außerordentlich oxydabel, während Chloral längere Zeit nicht mit Silberoxyd in Reaktion trat."

Selbst die Verbrennung des Kohlenoxyds zu Kohlensäure[2]) geht über die Zwischenphase der Ameisensäure vor sich.

$$C{:}O \longrightarrow \begin{matrix}HO\\H\end{matrix}\rangle C{:}O \longrightarrow CO_2 + H_2$$

$$H_2 + \frac{O_2}{2} \longrightarrow H_2O$$

[1]) H. Wieland, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45, 2606, 1912.
[2]) H. Wieland, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45, 679, 1912.

Schon vor vielen Jahren hatte O. Loew[1]) nachgewiesen, daß aus einer alkalischen Lösung von Formaldehyd in Anwesenheit von Kupferoxydul eine große Menge von Wasserstoff ausgeschieden wird. Dabei wird Ameisensäure gebildet. Dieser Reaktion war seinerzeit nicht die gebührende Beachtung geschenkt worden. Und doch ist dieselbe geeignet, uns eine Erklärung des Mechanismus der Bildung von Fettsäuren durch anaerobe Bakterien unter Ausscheidung von Wasserstoff zu geben; die Bakterien bringen unter anaeroben Bedingungen Oxydationen auf Kosten des Sauerstoffes des Wassers zuwege.

C. Neuberg[2]) und seine Mitarbeiter haben in ihren bemerkenswerten Arbeiten gezeigt, daß bei der alkoholischen Gärung als Zwischenprodukte Brenztraubensäure und Acetaldehyd gebildet wird. Kostytschew[3]) beobachtete Überführung von Acetaldehyd in Alkohol. In Anwesenheit von Chlorzink erhielt er bei der Vergärung von Glucose eine beträchtliche Menge von Acetaldehyd.

Die Bildung des Aldehyds wird von einer Entziehung von Wasserstoff begleitet, der bei der Bildung von Alkohol wieder hinzugefügt wird. In Anwesenheit von Luft muß der gebildete Acetaldehyd dagegen durch das Wasser nach dem Schema von Wieland oxydiert werden. Der gesamte, sowohl bei der Bildung des Acetaldehyds, wie auch bei dessen weiterer Oxydation durch Wasser erhaltene Wasserstoff hingegen tritt schließlich in Verbindung mit den Atmungspigmenten (wie auch bei den Versuchen von Wieland mit chinoiden Substanzen) und wird sodann durch den Sauerstoff der Luft zu Wasser oxydiert. Welche Stoffe in den Pflanzen die Rolle des Palladiumschwarzes bei den Versuchen von Wieland spielen, ist noch gänzlich unbekannt.

Die vorliegende Arbeit hat das Studium des Prozesses der Absorption von Sauerstoff durch die Atmungschromogene zur Aufgabe.

Der Prozeß der Sauerstoffabsorption durch die Pflanzen wird gegenwärtig zu den Vorgängen der langsamen Verbrennung

---

[1]) O. Loew, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **20**, 144, 1887; **45**, 3319, 1912.

[2]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. **36**, 68, 76, 1911 und die darauffolgenden Bände.

[3]) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 130, 359, 1912.

oder der Autooxydation gerechnet. A. Bach[1]) und K. Engler[2]) haben gleichzeitig und unabhängig voneinander nachgewiesen, daß alle zu oxydierenden Körper anfänglich ganze Sauerstoffmoleküle unter Bildung von Superoxyden aufnehmen

$$A + O_2 \longrightarrow AO_2.$$

Die so gebildeten Superoxyde enthalten jenen aktivierten Sauerstoff, mit dessen Hilfe die intracellulären Oxydationen vor sich gehen.

Auf Grund der Theorie von Bach und seiner Untersuchungen über die Peroxydase, die er mit Chodat angestellt hatte, erscheint die Oxydation innerhalb der Pflanzen in Gestalt folgenden Schemas. Indem die im Innern der Pflanzen befindliche Oxygenase sich mit dem Sauerstoff der Luft verbindet, wird ein Superoxyd gebildet. Die Einwirkung dieses Superoxyds auf die zu oxydierenden Stoffe wird durch die Peroxydase beschleunigt[3]). Gegenwärtig sind unsere Kenntnisse von der Peroxydase recht beträchtlich, während uns über die Oxygenase fast gar nichts bekannt ist[4]). Ihr Vorhandensein hat auf Grund von Betrachtungen mehr theoretischen Charakter angenommen. Da die in den Pflanzen sehr weit verbreitete Peroxydase keinen Anteil an der Absorption des Luftsauerstoffes nimmt, und nur die Übergabe des Sauerstoffes von den zur Bildung gelangten Superoxyden besorgt, d. h. nur mit der intracellulären Oxydation beschäftigt ist, so ist es klar, daß wir von dem eigentlichen Mechanismus der Absorption des Luftsauerstoffes gar nichts wissen. Die oxydierenden Reaktionen der Pflanzen erfolgen im Innern des Protoplasmas. Da nun das Protoplasma eine alkalische Reaktion besitzt, so geht hieraus hervor, daß die physiologischen Reaktionen in einem alkalischen Medium vor sich gehen. Alle vorliegenden chemischen

[1]) A. Bach, Compt. rend. **124**, 951, 1897. Moniteur scientif. **11**, 479, 1897.

[2]) C. Engler und E. Wild, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **30**, 1669, 1897. — C. Engler und J. Weißberg, Kritische Studien über die Vorgänge der Autooxydation. 1904.

[3]) Einige Forscher vermuten, daß die Oxydase die Absorption des Sauerstoffes der Luft befördert. Richtiger erscheint uns die Ansicht von Chodat und Bach (Chem. Ber. **36**, 606, 1903), wonach die Oxydase (Phenolase) aus der Mischung einer Substanz, die Superoxyd (Oxygenase) bilden kann, mit Peroxydase besteht.

[4]) Chodat und Bach, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **36**, 606, 1903.

Untersuchungen sprechen dafür, daß für die Autooxydation ein alkalisches Medium nicht nur als das günstigste erscheint, sondern häufig auch unbedingt erforderlich ist.

Aus diesem Grunde haben wir bei unseren Versuchen zu den die Atmungschromogene enthaltenden Lösungen stets recht beträchtliche Mengen wässeriger Lösungen von Alkalien hinzugefügt [KOH oder $Ba(OH)_2$]. Auf 100 ccm Chromogenlösung wurden 5 ccm oder mehr einer $50^0/_0$igen Lösung von KOH oder 100 ccm einer gesättigten Lösung von $Ba(OH)_2$ hinzugefügt. Die Lösungen wurden in einen flachen Glaskolben mit breitem Boden gegossen, der ein Volumen von 420 ccm

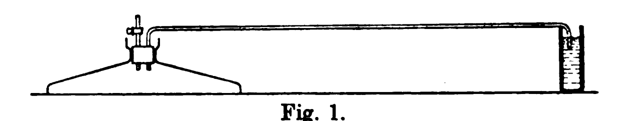


Fig. 1.

besaß (Fig. 1) und dessen Öffnung mit einem Gummistöpsel mit zwei Öffnungen verschlossen wurde. In die eine Öffnung wurde ein kurzes Glasrohr mit einem Hahn gesteckt, in die andere ein enges, zweimal umgebogenes Rohr, dessen mittlerer horizontaler Teil von 50 cm Länge mit einer in Millimeter eingeteilten Skala versehen wurde. Das äußere, nach unten umgebogene Ende dieser Röhre wurde in ein Gefäß mit gefärbtem Wasser versenkt. Die Sauerstoffabsorption im Innern des Kolbens war von einer Fortbewegung des gefärbten Wassers in dem horizontalen Abschnitt des langen Rohres begleitet. Es ist noch besser, dem horizontalen Rohre eine kaum merkliche Neigung in der Richtung nach dem Gefäße mit der Flüssigkeit zu geben; in diesem Falle strömt, nachdem das Röhrchen sich mit gefärbtem Wasser angefüllt hat, dieses letztere bei Öffnen des Hahnes wieder in das Gefäß zurück, um nach Schließung des Hahnes von neuem in dem Röhrchen aufzusteigen. Um die Sauerstoffabsorption zu beschleunigen, wird der Kolben mit der Flüssigkeit geschüttelt. Bei einigen Versuchen wurde die Chromogenlösung in ein umgekehrtes und durch Quecksilber verschlossenes Reagensgläschen eingeführt, in das sodann ein Stückchen Ätzkali gebracht wurde. Nach einiger Zeit war der gesamte in dem Reagensgläschen vorhanden gewesene Sauerstoff absorbiert. Die Gasanalyse wurde

vermittels des Apparates von **Bonnier** und **Mangin** mit den von **Baranetzky** angebrachten Modifikationen ausgeführt[1]).

Als Beispiele wollen wir hier einige unserer Versuche anfügen.

Versuch 1.

100 ccm Saft aus den Spitzen etiolierter Stengel von Vicia Faba und 10 ccm KOH in einem Kolben mit horizontalem Glasrohr (Fig. 1). Je 2,5 ccm Sauerstoff (Volumen des horizontalen Rohres) wurden in 3, 3, 3, 5, 5, 6, 6, 6 Minuten absorbiert. Im Verlauf von 37 Minuten wurden demnach 20 ccm Sauerstoff absorbiert. Sauerstoff wurde noch ziemlich lange Zeit hindurch absorbiert. Die anfangs farblose Flüssigkeit nahm eine ziegelrote Färbung an, die dann in eine dunkelbraune überging.

Versuch 2.

15 g etiolierte Stengelspitzen von Vicia Faba wurden in einem Mörser zerrieben und die ganze Masse in einen Kolben mit 100 ccm Barytwasser verbracht. Die Absorption von 2,5 ccm Sauertoff erfolgte in 2, 3, 4, 5, 6 Minuten. In 20 Minuten wurden demnach 12,5 ccm Sauerstoff absorbiert. Der Versuch wurde unterbrochen. Die Veränderung in der Färbung wie beim vorhergehenden Versuch.

Versuch 3.

50 g etiolierte Stengel von Vicia Faba wurden in einem Mörser zerrieben und die erhaltene Masse im Kolben mit 150 ccm Barytwasser übergossen. In 8 Minuten wurden 10 ccm Sauerstoff absorbiert. Der Versuch wurde unterbrochen.

Versuch 4.

120 g etiolierte Stengel von Vicia Faba wurden in 300 ccm Wasser gekocht. 100 g des Auszuges wurden mit 10 ccm KOH genommen. In 15 Minuten wurden 7,5 ccm Sauerstoff absorbiert.

Versuch 5.

Mit kochendem Wasser gewonnener Auszug von Spitzen etiolierter Stengel von Vicia Faba wurde zusammen mit Ätzkalilösung in Reagensgläschen gebracht, die mit Luft gefüllt und durch Quecksilber verschlossen waren. Die am anderen Tage ausgeführte Analyse der Luft ergab, daß fast der gesamte Sauerstoff absorbiert worden war. In dem einen Gläschen waren nur 0,95%, in dem anderen 0,66% Sauerstoff verblieben. In einem Gläschen mit nicht gekochtem Saft verblieben 0,67% Sauerstoff.

Die alkalische Lösung des Saftes wurde statt des Pyrogallates für die Analyse der Luft im Baranetzkyschen Apparate verwendet. Die

---

[1]) Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 3, 1910. Abhandlung von **W. Palladin** und **S. Kostytschew**.

Wirkung des Saftes erwies sich bedeutend schwächer als die Wirkung des Pyrogallates: nach mehrfacher Einführung des Saftes in den Apparat waren 15 % des Sauerstoffs absorbiert worden.

Versuch 6.

Ihrer Spitzen beraubte alte etiolierte Stengel von Vicia Faba wurden in einem Mörser zerrieben und mit einer großen Quantität von Methylalkohol übergossen. Nach 3 Tagen wurde der Alkohol abgegossen, destilliert und ein Teil der erhaltenen gelben Lösung mit Wasser verdünnt und mit einer Lösung von KOH (im ganzen 100 ccm) in einen Kolben getan (Fig. 1). Absorption von 2,5 ccm Sauertoff in 3, 4, 6, 6, 9 Minuten. In 28 Minuten waren demnach 12,5 ccm Sauerstoff absorbiert worden. Das gleiche Verhalten wurde auch mit Barytwasser beobachtet. Das Chromogen wird demnach durch Methylalkohol sehr gut ausgezogen. Die Oxydation des auf diese Weise erhaltenen Chromogens durch Peroxydase und H_2O_2 gibt ein sehr schönes rubinrotes Pigment, das ziemlich lange unverändert bleibt. Die gleiche Oxydation wässeriger Auszüge ergibt dagegen ein rotes Pigment, das sehr bald in ein schwarzbraunes übergeht.

Der mit Methylalkohol gewonnene Auszug wurde bis zu einem geringen Volumen verdampft und darauf mit Aceton gefällt. Das Filtrat wurde wiederum bis zu einem unbedeutenden Volumen verdampft und mit Wasser verdünnt. 50 ccm dieser Lösung absorbierten mit KOH in 40 Minuten 35 ccm Sauerstoff.

Der Acetonniederschlag absorbierte in Wasser aufgelöst nur geringe Mengen von Sauerstoff. Seine Autolyse mit Emulsin vermochte seine Absorptionsfähigkeit augenscheinlich nicht zu erhöhen. Im Gegensatz hierzu wurde die Oxydationsbefähigung eines Acetonniederschlages aus etiolierten Stengelspitzen durch die Autolyse mit Emulsin beträchtlich erhöht. Hierdurch wird der schon früher von Palladin[1]) bewiesene Grundsatz bestätigt, wonach das Chromogen in diesen Spitzen in beträchtlicher Menge in Gestalt von Prochromogen enthalten ist.

Versuch 7.

Etiolierte Stengelspitzen von Vicia Faba wurden einer Autolyse in Chloroformwasser während 25 Tagen bei Ausschluß von Sauerstoff in verkorkten Kolben unterworfen. Die Flüssigkeit wurde im Kohlensäurestrome abfiltriert, da sie an der Luft rasch schwarz wurde. Das schwach alkalisch gemachte Filtrat ergab eine ergiebige Sauerstoffabsorption. Ein anderer Teil des Filtrates wurde unter einer Schicht flüssigen Paraffins gekocht. Die Sauerstoffabsorption begann bedeutend schwächer vor sich zu gehen. In den Produkten der Autolyse befindet sich das Chromogen in einem anderen Zustande als das mit Methylalkohol ausgezogene Chromogen. Ersteres oxydiert sich selbst an der Luft (in schwach saurem Medium) und das Hinzufügen von Wasserstoffhyperoxyd

[1]) W. Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 1909.

verhindert die Sauerstoffabsorption: die Flüssigkeit bleibt farblos. Die gleichen Eigenschaften, wenn auch in geringerem Maße, besitzen auch die gekochten Produkte der Autolyse. Im Gegensatz hierzu wird das mit Methylalkohol an der Luft ausgezogene Chromogen fast gar nicht in neutralen oder sauren Lösungen oxydiert. Kräftig wird von Wasserstoffhyperoxyd und Peroxydase oxydiert. Da während der Autolyse Stoffe angehäuft werden, die ihren Wasserstoff leicht an die Pigmente abgeben, so muß das nach der Autolyse erhaltene Chromogen in Anbetracht seiner besonderen Eigenschaften unter der Bezeichnung reduziertes Chromogen von dem mit Methylalkohol ausgezogenen Chromogen unterschieden werden. Gewöhnliches Chromogen kann man in reduziertes verwandeln, wenn man dasselbe zusammen mit Hefe einer Autolyse unterwirft.

Führt man die Autolyse irgendeiner Pflanze ohne Sauerstoff in Gegenwart von Methylenblau aus, so kann man beobachten, wie leicht der Wasserstoff auf den Farbstoff übertragen wird, wobei das Methylenblau sich in einen an der Luft rasch blau werdenden Leukokörper verwandelt. Nach lange andauernder Autolyse gehen so tief eingreifende Veränderungen vor sich, daß das farblos gewordene Methylenblau die Fähigkeit einbüßt, an der Luft von neuem blau zu werden. Gießt man das Filtrat (im Kohlensäurestrom) von autolysierten Pflanzen in einen Glaszylinder, so kann man beobachten, wie die Sauerstoffabsorption vor sich geht: die Flüssigkeit beginnt oben allmählich schwarz zu werden. Die Autolyse in Anwesenheit von Säure (bei unseren Versuchen wurde Weinsäure hinzugefügt) ergibt Filtrate, die an der Luft farblos bleiben. Auch das Hinzufügen von Säure nach erfolgter Autolyse hemmt die Bildung von Pigment an der Luft.

Versuch 8.

100 g Spitzen etiolierter Stengel von Vicia Faba wurden einer Autolyse unter einer Schicht flüssigen Paraffins mit 500 ccm Wasser und 12 g Fluornatrium unterworfen. Das Filtrat (50 ccm) absorbierte mit 5 ccm Ätzkali im Verlaufe von 25 Minuten 12,5 ccm Sauerstoff. Die Autolyse mit Fluornatrium bietet den Vorzug vor der Autolyse mit Chloroformwasser, daß man nichtabgekochte Filtrate verwenden kann. Durch das Kochen wird die Wirkung des Chromogens abgeschwächt oder ganz aufgehoben, während die Chloroformdämpfe das Beobachten der Sauerstoffabsorption verhindern.

Außer den Bohnen wurden noch einige andere Arten von Pflanzen untersucht. Eine Sauerstoffabsorption wurde in den Blättern von Biota orientalis, Hedera Helix, in den oberirdischen Rhizomen von Polypodium leuorhizon und P. nervifolium, in dem Mycelium von Aspergillus niger beobachtet. Die Produkte der Autolyse der Blätter von Ficus repens ohne Sauerstoff in Chloroformwasser, oder in einem Mörser

zerrieben und mit alkalischem Wasser begossen, absorbieren keinen Sauerstoff. Auszüge hingegen, die mit Methylalkohol gewonnen, und die zur Entfernung des Chlorophylls mit Wasser verdünnt wurden, worauf sie von neuem bis zu einem geringen Volumen eingedampft wurden, absorbieren Sauerstoff.

Eine Absorption von Sauerstoff wird nicht beobachtet in Auszügen mit kochendem Wasser aus im Ruhezustande befindlichen Pflanzen, und zwar aus Erbsensamen, Weizenkeimen und Runkelrübenwurzeln. Nach der Autolyse im Ruhezustande befindlicher Pflanzen, oder nach der Einwirkung von Emulsin kann man gewöhnlich auch bei im Ruhezustande befindlichen Pflanzen eine Sauerstoffabsorption beobachten. Während der Ruheperiode befinden sich die Chromogene in gebundenem Zustande in Gestalt von Prochromogenen. Um feststellen zu können, zu welchen Stoffen die Atmungschromogene gehören, wurden mehrere Versuche mit Substanzen von bekanntem Bau angestellt. Hydrochinin, Brenzcatechin, Pyrogallol, Gallussäure und Tannin absorbieren sehr leicht Sauerstoff in einem alkalischen Medium. Resorcin, Phloroglucin, Alizarin, Orcin und Aloin absorbieren dagegen keinen Sauerstoff.

G. Bertrand[1]) hatte nachgewiesen, daß durch Oxydasen Para- und Orthoverbindungen sehr gut, Metaverbindungen dagegen gar nicht oxydiert werden. So werden durch Peroxydase Hydrochinon (Paradiphenol) und Brenzcatechin (Orthodiphenol) gut oxydiert, während Resorcin (Metadiphenol) gar nicht oxydiert wird. Pyrogallol wird durch Peroxydase und Wasserstoffhyperoxyd oxydiert, sein Isomeres Phloroglycin dagegen nicht. In gleicher Weise verhalten sich alle fünf erwähnten Stoffe in bezug auf Sauerstoff in alkalischen Lösungen.

Die Atmungschromogene finden sich in den Pflanzen gewöhnlich in Gestalt von Prochromogenen, d. h. in gebundenem Zustande. Es ist sehr wahrscheinlich, daß u. a. auch die Glucoside solche Prochromogene darstellen. Mit einigen Glucosiden angestellte Versuche ergaben nachstehende Resultate. Arbutin absorbiert in alkalischer Lösung keinen Sauerstoff. Nach seiner Zersetzung durch Emulsin absorbiert es in alkali-

[1]) G. Bertrand, Annales de chimie et de physique, 7e série, 12, 115, 1897.

scher Lösung sehr gierig Sauerstoff, indem als Zerfallsprodukt Hydrochinon entsteht. Der nächste Versuch zeigte, wie rasch durch eine 1%ige Hydrochinonlösung (100 ccm) mit 20 ccm KOH im Kolben Nr. 1 25 ccm Sauerstoff absorbiert wurden, und zwar in 1, 1, 1,5, 1, 1,5, 1,5 Minuten. In 7,5 Minuten wurden demnach 15 ccm Sauerstoff absorbiert. Quercitrin, Aesculetin und Viburnin absorbieren Sauerstoff heftig in alkalischen Lösungen ohne vorhergehende Spaltung in ihre Bestandteile. Amygdalin, Phlorizin und Saligenin absorbieren keinen Sauerstoff, und zwar weder unmittelbar noch auch nach der Einwirkung von Emulsin. Zugunsten einer Zugehörigkeit wenigstens einer beträchtlichen Menge von Atmungschromogenen zu der Gruppe der Dioxybenzole sprechen die Untersuchungen von Majima[1]) über den japanischen Lack. Den Hauptbestandteil des japanischen Lackes bildet Urushiol ($C_{20}H_{30}O_2$), das den Bau von Dioxyphenol mit einer großen nichtgesättigten Seitenkette besitzt.

Das mit Methylalkohol aus alten etiolierten Bohnenstengeln ausgezogene und mit Aceton gereinigte Atmungspigment ergibt mit Eisenchlorür eine prächtige intensiv grüne, nach Hinzufügung von doppeltkohlensaurem Natron in Violett und Lila übergehende Färbung. Mit essigsaurem Blei entsteht ein weißer Niederschlag. Das Chromogen der Bohnen ist demnach aller Wahrscheinlichkeit nach Brenzcatechin oder eines seiner Derivate. Wheldale[2]) vermutet ebenfalls, daß in Pflanzen, die auf Guajacharz allein, ohne Hinzufügung von Wasserstoffhyperoxyd, reagieren, die Rolle der Oxygenase von dem in den untersuchten Pflanzen enthaltenen Brenzcatechin ausgeübt wird.

Es mag hier bemerkt werden, daß das so leicht Pigmente ergebende Adrenalin (Suprarenin) ebenfalls ein Derivat des Brenzcatechins darstellt:

$$\begin{array}{l} C_6H_3(OH)_2 \\ | \\ CH.OH.CH_2.NH.CH_3 \end{array}$$

Behufs Beantwortung der Frage, ob nicht das Chromogen, nachdem es seinen Wasserstoff an den Sauerstoff der Luft ab-

[1]) Rikō Majima, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 4390, 1907; **42**, 1418, 3664, 1909; **45**, 2727, 1912.

[2]) W. Wheldale, Proc. Roy. Soc. **84**, 121.

gegeben hat, imstande ist, denselben von neuem von den Produkten des anaeroben Atmungsstadiums zurückzuerhalten und ihn hierauf von neuem durch den Sauerstoff der Luft zu oxydieren, haben wir die nachstehenden Versuche ausgeführt.

Versuch 9.

10 g gewöhnliches Zymin mit 200 ccm 10%iger Saccharoselösung standen unter einer flüssigen Paraffinschicht (ohne Chloroform) bei Zimmertemperatur im Verlaufe eines Tages. Hierauf wurde die Flüssigkeit sorgfältig durcheinandergemischt und zwei Portionen derselben zu je 60 ccm mit Hefe vermischt. 1. 60 ccm Produkte der alkoholischen Gärung + 30 ccm Wasser + 20 ccm KOH. 2. 60 ccm Wasser + 30 ccm Lösung von Chromogen aus etiolierten Bohnenstengeln + 20 ccm KOH. 3. 60 ccm Produkte der alkoholischen Gärung + 30 ccm Chromogenlösung + 20 ccm KOH. Die Produkte der alkoholischen Gärung wurden in einem besonderen Kolben mit Ätzkali vermischt und erst dann die Flüssigkeit, die keine freie Kohlensäure mehr ausschied und enthielt, in einen flachen Kolben gegossen, in dem die Absorption des Sauerstoffs beobachtet wurde.

Die Fähigkeit, Sauerstoff zu absorbieren, war die nachstehende:

	Erste Portion, Hefe		Zweite Portion, Chromogen		Dritte Portion, Chromogen + Hefe	
	Sauerstoff ccm	Dauer Minuten	Sauerstoff ccm	Dauer Minuten	Sauerstoff ccm	Dauer Minuten
1.	2,5	10	2,5	4,5	2,5	4,0
2.	2,5	6	2,5	5,5	2,5	3,0
3.	2,5	8	2,5	7,0	2,5	2,0
4.	2,5	7	2,5	9,0	2,5	2,0
5.	2,5	10	2,5	7,0	2,5	2,0
6.	2,5	8	2,5	8,0	2,5	1,5
7.	2,5	10	2,5	10,0	2,5	2,0
8.	2,5	8	2,5	10,0	2,5	2,5
9.	2,5	8	2,5	15,0	2,5	2,0
10.	2,5	15	—	—	2,5	2,0
11.	—	—	—	—	2,5	1,5
12.	—	—	—	—	2,5	2,0
13.	—	—	—	—	2,5	2,5
14.	—	—	—	—	2,5	2,0
15.	—	—	—	—	2,5	2,0
16.	—	—	—	—	2,5	2,0
17.	—	—	—	—	2,5	2,0
18.	—	—	—	—	2,5	2,0
19.	—	—	—	—	2,5	2,5
20.	—	—	—	—	2,5	2,0
	25,0	90	22,5	76,0	50,0	43,5

Berechnet man auf Grund dieser Angaben die Menge Sauerstoff, die alle 5 Minuten absorbiert wurde, so erhält man nachstehende Resultate:

1. Portion	2. Portion	Summe der 1. u. 2. Portion	3. Portion
1,25	2,80	4,05	3,3
1,25	2,20	3,45	4,2
2,00	2,10	4,10	6,7
1,75	1,30	3,05	5,8
1,55	1,30	2,85	6,7
1,80	2,10	3,90	5,8
1,40	1,50	2,90	6,2
1,25	1,40	2,65	6,2
1,50	1,40	2,90	5,8
1,50	1,25	2,75	—
1,25	1,25	2,50	—
1,50	1,25	2,70	—
1,55	0,90	2,45	—
1,50	0,80	2,30	—
1,20	0,80	2,00	—
0,30	0,10	0,40	—
0,30	—	—	—

Diese Ergebnisse sind auf untenstehender Kurve graphisch dargestellt (Fig. 2).

Im Verlaufe von 10 Minuten haben demnach die Produkte der alkoholischen Gärung zusammen mit den Zellen 12,25 ccm Sauerstoff absorbiert, während das Chromogen allein in der gleichen Zeit 14,7 ccm Sauerstoff absorbierte, zusammengenommen also 26,95 ccm. Im Gegensatz hierzu hat das Chromogen zusammen mit den Produkten der alkoholischen Gärung in 40 Minuten 44,9 ccm Sauerstoff absorbiert, d. h. um 66,6 % mehr.

Eine Wiederholung des Versuches ergab die gleichen Resultate.

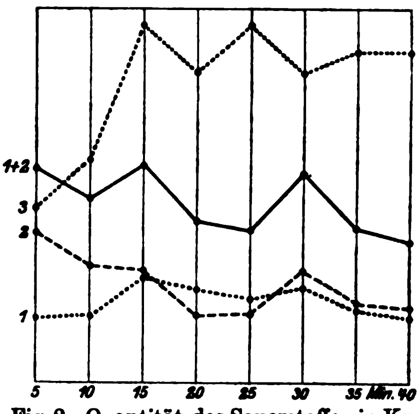


Fig. 2. Quantität des Sauerstoffes in Kubikzentimetern, der alle 5 Minuten absorbiert wurde: 1. durch Hefe, 2. durch Chromogen, 1. + 2. Summe, 3. durch Chromogen und Hefe.

Versuch 10.

10 g gewöhnlichen Zymins mit 200 ccm 20%iger Saccharoselösung standen im Verlaufe eines Tages unter flüssigem Paraffin (mit Chloroform) bei Zimmertemperatur. Hierauf wurde die Flüssigkeit gekocht und abfiltriert. 60 ccm des Filtrates absorbierten mit 30 ccm KOH zu je 2,5 ccm

Sauerstoff im Verlaufe von 9, 7, 5, 3, 5, 2, 5, 3, 5, 2, 2, 2,5, 2, 2, 3, 2, 2, 2,5, 3, 3, 3, 3,5, 3,5, 5, 6, 6, 5.

Das Abkochen der Produkte der alkoholischen Gärung tötet demnach nicht ihre Fähigkeit, ihren Wasserstoff an das Chromogen abzugeben.

Versuch 11.

Der Unterschied dieses Versuches von dem vorhergehenden besteht darin, daß das Zymin im Verlaufe eines Tages mit Wasser und nicht mit Saccharoselösung gestanden hatte. 1. 60 ccm Produkte einer eintägigen Autolyse zusammen mit Zellen + 30 ccm Wasser + 10 ccm KOH. 2. 60 ccm Wasser + 30 ccm Chromogenlösung + 10 ccm KOH. 3. 60 ccm Produkte der Autolyse + 30 ccm Chromogen + 10 ccm KOH.

Die 1. Portion absorbierte keinen Sauerstoff. Die 2. und die 3. Portion absorbierten vorstehende Mengen von Sauerstoff:

Sauerstoff ccm	2. Portion Chromogen	3. Portion Chromogen und Hefe
2,5	2,5 Minuten	2 Minuten
2,5	2,0 „	2 „
2,5	2,5 „	2 „
2,5	2,5 „	2 „
2,5	3,0 „	3 „
2,5	4,5 „	3 „
2,5	5,5 „	5 „
2,5	20,0 „	12 „

Wir ersehen hieraus, daß das Hinzufügen der Produkte einer eintägigen Autolyse von Hefe zu dem Chromogen dessen Fähigkeit, Sauerstoff zu absorbieren, nur in sehr geringem Grade erhöht. Eine alkalische Saccharoselösung absorbiert keinen Sauerstoff.

Aus den drei letzten Versuchen geht hervor, daß während der alkoholischen Gärung (und demnach auch während des ersten — anaeroben — Stadiums der Atmung) Stoffe gebildet werden, die ihren Wasserstoff leicht an das Atmungschromogen abgeben, von dem er durch den Sauerstoff der Luft zu Wasser oxydiert wird.

Durch Kochen werden die Produkte der alkoholischen Gärung nicht daran verhindert, ihren Wasserstoff an das Chromogen abzugeben.

Versuch 12.

Statt Atmungschromogen wurde Methylenblau verwendet. Es wurde ebenfalls eine Entnahme des Wasserstoffes von den Produkten der alkoholischen Gärung sowie eine Oxydation durch den Sauerstoff der Luft beobachtet.

Manchot[1]) wies nach, daß bei der Oxydation alkalischer Lösungen von Oxantranol, Hydrazobenzol und weißem Indigo

[1]) W. Manchot, Annal. d. Chem. **314**, 177; **316**, 318, 331. Verhandl. d. phys. med. Gesellschaft zu Würzburg **39**, 1908.

nicht Wasser, sondern Wasserstoffhyperoxyd gebildet wird. Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch bei der Oxydation der Chromogene zuerst Wasserstoffhyperoxyd gebildet wird. Ebenso ist es auch möglich, daß anfangs nicht Wasserstoffhyperoxyd gebildet wird, sondern ein organisches Hyperoxyd. Welche dieser drei Möglichkeiten in Wirklichkeit stattfindet, d. h. ob unmittelbar Wasser oder zuerst Wasserstoffhyperoxyd, oder aber ein organisches Hyperoxyd gebildet wird, wird von ferneren Untersuchungen festgestellt werden müssen. Wird aus dem Chromogen zuerst ein organisches Hyperoxyd gebildet, so würde das Chromogen in diesem Falle eben die von Chodat und Bach theoretisch angenommene Oxygenase darstellen. Schon Wheldale hat in seiner erwähnten Arbeit die Ansicht ausgesprochen, daß das Brenzcatechin bei einigen Pflanzen die Rolle der Oxygenase spielt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung lassen sich wie nachstehend zusammenfassen:

1. Die Atmungschromogene lassen sich durch Methylalkohol aus den Pflanzen ausziehen.

2. Alkalische Lösungen der Atmungschromogene absorbieren gierig den Sauerstoff der Luft, indem sie dabei braunrote Pigmente bilden. Das Protoplasma, in dem die Absorption des Sauerstoffes durch die Atmungschromogene vor sich geht, besitzt ebenfalls eine alkalische Reaktion.

Die Atmungschromogene werden auch durch Peroxydase und Wasserstoffhyperoxyd oxydiert.

3. Wässerige Auszüge aus Pflanzen enthalten ebenfalls Chromogene, die in alkalischen Lösungen Sauerstoff aus der Luft absorbieren. Durch Kochen wird die Fähigkeit, Sauerstoff nach Hinzufügen von Alkalien zu absorbieren, abgeschwächt oder gänzlich aufgehoben.

4. Die durch Methylalkohol ausgezogenen Chromogene werden an der Luft fast gar nicht oxydiert. Chromogene aus Pflanzen, die während mehrerer Tage in sauerstofffreiem Medium der Autolyse unterworfen wurden, absorbieren dagegen sehr energisch den Sauerstoff der Luft unter Bildung von Pigmenten. Durch Hinzufügen von Wasserstoffhyperoxyd wird der Prozeß der Pigmentbildung aufgehoben: die Flüssigkeit bleibt farblos. In Anbetracht dieser Eigenschaft wird das durch die Auto-

lyse veränderte Chromogen als reduziertes Chromogen bezeichnet, zum Unterschied von dem gewöhnlichen Chromogen.

5. Die Autolyse gewöhnlichen Chromogens mit Hefe führt dasselbe in reduziertes Chromogen über.

6. Pflanzen, die nach der Autolyse in sauerstofffreiem Medium ein an der Luft rasch schwarz werdendes Chromogen ergeben, liefern nach einer Autolyse unter den gleichen Bedingungen, jedoch in Anwesenheit von Säure, keine Spur von Pigment an der Luft.

7. Das Atmungschromogen aus Bohnen ist wahrscheinlich Brenzcatechin oder ein Derivat desselben.

8. Während der alkoholischen Gärung (und daher auch während des ersten, anaeroben Stadiums der Atmung) werden Stoffe gebildet, die ihren Wasserstoff leicht an das Atmungspigment abgeben, von dem er durch den Sauerstoff der Luft zu Wasser oxydiert wird.

Durch Kochen werden die Produkte der alkoholischen Gärung nicht daran verhindert, ihren Wasserstoff an das Chromogen abzugeben.

9. Die Atmungschromogene (RH_2) geben gleich den Leukokörpern ihren Wasserstoff an den absorbierten Sauerstoff ab. Es resultiert ein Pigment und Wasser ($R + H_2O$). Der während der Atmung absorbierte Sauerstoff wird demnach, wie dies schon früher durch Palladin nachgewiesen worden ist, auf die Entfernung des Wasserstoffes aus den Pflanzen verwendet.

10. Die von Palladin in einer vorhergehenden Arbeit ausgesprochenen Vermutungen, wonach während der Atmung der Pflanzen der Kohlenstoff nicht durch den Sauerstoff der Luft, sondern durch Wasser oxydiert wird, sind durch die Untersuchungen von Heinrich Wieland durchaus bestätigt worden, der nachwies, daß die Oxydation der Aldehyde (ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung und demnach auch des anaeroben Stadiums der Atmung stellt nach den Untersuchungen von Neuberg und seinen Mitarbeitern wie auch denjenigen von Kostytschew eben der Acetaldehyd dar) bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff auf Kosten des Wassers vor sich gehen kann, unter Zwischenbildung von Hydraten.

Der bei der Zersetzung des Wassers gebildete Wasserstoff, der in den Versuchen von Wieland durch Methylenblau

oder durch chinoide Verbindungen entfernt wurde, wird aus den Pflanzen durch die Atmungschromogene entfernt.

Zersetzung des Wassers geht nach Bach unter Anteilnahme des Fermentes der Redukase vor sich.

11. Es erscheint sehr wahrscheinlich, daß das Wasser bei der Oxydation des Chromogens zu Pigment nicht unmittelbar gebildet wird, sondern daß zuvor entweder Wasserstoffhyperoxyd (wie bei der Oxydation komplzierter Hydrochinone nach Manchot) oder aber ein organisches Hyperoxyd (d. h. die Oxygenase von Bach) zur Bildung gelangt. Mit Hilfe des gebildeten Hyperoxyds und der Peroxydase geht nunmehr die Oxydation des sich bei der hydrolytischen Oxydation des Kohlenstoffes bildenden Wasserstoffes vor sich. In den Versuchen von Wieland trat dieser Wasserstoff zeitweilig mit dem Palladiumschwarz in Verbindung, dem er durch die chinoiden Verbindungen entnommen wurde. Durch welche Stoffe das Palladiumschwarz im Innern der Zelle ersetzt wird, soll durch die Untersuchungen eines der beiden Verfasser der vorliegenden Arbeit festgestellt werden.

12. Den Wasserstoff, der nach der hydrolytischen Oxydation des Kohlenstoffes der organischen Verbindungen frei wird und bei den höheren Pflanzen unter Beihilfe des Atmungschromogens bis zu Wasser oxydiert oder bei der Hefe in Gestalt von Äthylalkohol ausgeschieden wird, geben die anaeroben Bakterien direkt an das sie umgebende gasförmige Medium ab. Als Schema für die Arbeit der anaeroben Bakterien kann die Reaktion von Oskar Loew dienen: aus einer alkalischen Lösung von Formaldehyd werden in Gegenwart von Kupferoxydul große Mengen von Wasserstoff ausgeschieden, wobei Ameisensäure gebildet wird.

Synthetische β-Glucoside der Terpenalkohole.

Von

J. Hämäläinen.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Helsingfors.)

(Eingegangen am 6. Februar 1913.)

I.

Glucoside mit olefinischen und monocyclischen Aglykonen.

Die Glucoside der Terpenalkohole verdienen biochemisches Interesse vor allen Dingen deshalb, weil dieselben mit großer Wahrscheinlichkeit als Zwischenprodukte im Stoffwechsel auftreten, wenn man betreffende Alkohole entweder an Tiere verfüttert oder als Arzneimittel beim Menschen verwendet.

Diese Glucoside sind im normalen Organismus unbeständig, indem dieselben zu entsprechenden gepaarten Glucuronsäuren oxydiert werden. Um diese, zuerst von Sundvik[1]), später von E. Fischer und Piloty[2]) ausgesprochene Theorie über die Entstehungsweise der gepaarten Glucuronsäuren im Organismus experimentell beweisen zu können, d. h. das Aufsuchen von betreffenden Glucosiden unter bestimmten Bedingungen in den Organen zu ermöglichen, ist deren nähere Charakterisierung sehr wünschenswert.

Dadurch angeregt, habe ich eine Reihe von diesen Verbindungen synthetisch dargestellt, besonders weil nur das d-Borneol- und l-Mentholglucosid bisher bekannt sind[3]).

---

1) Sundvik, Akad. Abhandl., S. 61 bis 63. Helsingfors 1886.

2) E. Fischer und Piloty, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **24**, 521, 1891.

3) E. Fischer und Raske, ebenda **42**, 1465, 1909.

Die Synthese wurde nach dem Prinzip von Königs und Knorr[1]) ausgeführt: Man schüttelt den betreffenden Alkohol, in absolutem Äther gelöst, mit Acetobromglucose und Silbercarbonat. Der entstandene Acetylkörper liefert nach der Entfernung der Acetylgruppen das entsprechende Glucosid. Zur Erzielung einer befriedigenden Ausbeute muß man, wie E. Fischer und Raske[2]) betonen, einen großen Überschuß von Alkohol anwenden. Man kann aber die Ausbeuten nicht unbeträchtlich (5 bis 20%) vergrößern, wenn man sich des folgenden Kunstgriffs bedient, der auch in solchen Fällen leidliche Resultate liefert, wo größere Mengen von Alkohol nicht zur Verfügung stehen: Acetobromglucose und Silbercarbonat werden nicht auf einmal eingetragen, sondern je in 4 bis 5 Portionen; nach jeder Portion schüttelt man, bis die Lösung Br-Reaktion nicht mehr zeigt, fügt dann je eine neue Portion zu, schüttelt wieder usw. Nach diesem Verfahren wurden in allen Fällen Resultate erzielt, wo die Ausbeuten sonst recht bescheiden gewesen wären.

Darstellung von β-Acetobromglucose[3]).

Je 100 g β-Pentaacetylglucose wurden mit je 130 ccm Eisessig und Eisessig-Bromwasserstoff unter Schütteln versetzt, darauf 2 bis $2^1/_2$ Stunden stehen gelassen. Dann wurde die Lösung in $1^1/_2$ l Eiswasser eingegossen und zweimal mit Äther ausgezogen. Die vereinigten Auszüge wurden bis zur schwach sauren Reaktion mit verdünnter Sodalösung rasch gewaschen, durch geglühtes Natriumsulfat scharf getrocknet und filtriert. Der Äther wurde im Glaszylinder durch Einleiten von trockner Luft allmählich verdunstet, wobei sich die β-Acetobromglucose in farblosen Nadeln ausschied. Die Ausbeute an recht reiner Substanz schwankte zwischen 80 und 85 g.

d-Citronellol-tetraacetyl-d-glucosid,
$C_{10}H_{19}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

30 g d-Citronellol (Siedepunkt 221 bis 222° und $[\alpha]_D^{20°} = +4{,}79°$) in 100 ccm absolutem Äther wurden zuerst mit

[1]) Königs und Knorr, ebenda **34**, 974, 1901.
[2]) E. Fischer und Raske, l. c.
[3]) Vgl. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 1902, 1911.

4,5 g Acetobromglucose und 2,3 g frischbereitetem, mit Alkohol und Äther gewaschenem und im Vakuum getrocknetem Silbercarbonat versetzt. Anfangs wurde mit der Hand geschüttelt, sobald aber die Kohlensäureentwicklung nachgelassen hatte, auf der Maschine. Nach 3 Tagen wurden 5,5 g Acetobromglucose und 3 g Silbercarbonat zugesetzt. Nach 3 tägigem Schütteln wurden wieder 3,5 g Acetobromglucose und 2,3 g Silbercarbonat, und schließlich nach weiteren 3 Tagen noch 6,5 g Acetobromglucose und 3,5 g Silbercarbonat eingetragen und mit dem Schütteln ca. 5 Tage fortgefahren.

Die trübe Lösung wurde filtriert und der Rückstand mit Äther gewaschen. Der Äther wurde spontan verdunsten gelassen und die dicke Flüssigkeit so lange mit Wasserdampf destilliert, bis kein Öl mehr überging. Im Destillierkolben blieb ein sirupartiger, brauner Rückstand zurück, der mit Aceton aufgenommen wurde. Die Acetonlösung wurde filtriert und spontan verdunsten gelassen. Hierbei blieb ein gelblicher Sirup zurück, der im Eisschrank allmählich krystallinisch erstarrte. Die Masse wurde durch Aufstreichen auf Ton von der zähen Mutterlauge befreit und aus siedendem verdünnten Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute 9 g. Das entspricht 38 % der Theorie, wenn man das Produkt auf die Menge der Acetobromglucose berechnet.

Die Analyse ergab:

0,1563 g Substanz gaben 0,3388 g CO_2 und 0,1048 g H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{38}O_{11}$ (486, 304):	Gef.:
C = 59,22 %	59,12 %
H = 7,88 %	7,50 %

Das Tetraacetylglucosid krystallisiert in glänzend-weißen Nadeln, schmilzt bei 30° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol und Essigester, leicht in Äther, Methyl- und Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und gar nicht in Petroläther.

d-Citronellol-d-glucosid,

$C_{10}H_{19}O.C_6H_{11}O_5$.

2 g Tetraacetylglucosid wurden in 30 ccm Alkohol gelöst und mit 8 g Baryt in 120 ccm Wasser allmählich versetzt.

Der Acetylkörper fiel hierbei in feinen Flocken aus. Die Mischung wurde unter zeitweiligem Schütteln ca. 24 Stunden bei 50 bis 60° gehalten. Bis auf einen kleinen, bräunlichen Rest war alles in Lösung gegangen. Die warme Lösung wurde mit Kohlensäure gesättigt, das $BaCO_3$ abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und das Filtrat im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht und der Alkohol unter vermindertem Druck abdestilliert. Hierbei blieb ein zäher, farbloser Sirup zurück, der keine Neigung zur Krystallisation zeigte. Zur Reinigung wurde derselbe in Essigester gelöst, in Kältemischung unter vorsichtigem Zusatz von Ligroin wieder ausgefällt und im Vakuum bei 8 mm und ca. 60° zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute fast quantitativ.

0,1375 g Substanz gaben 0,3035 g CO_2 und 0,1160 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{30}O_6$ (318,24):	Gef.:
C = 60,33 %	60,20 %
H = 9,50 %	9,44 %

Zur optischen Bestimmung diente eine absolut-alkoholische Lösung.

Substanz: 0,1739 g; Gesamtgewicht der Lösung: 9,0340 g; $p = 1,9250$; $d^{20}/_4 = 0,7994$; $l = 1$ dcm; $\alpha = -0,44^0$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20^0} = -28,59^0.$$

Das Glucosid stellt einen zähen, farblosen, sehr bitter schmeckenden, geruchlosen Sirup dar. Es löst sich leicht in Aceton, Chloroform, Essigester, Methyl- und Äthylalkohol, ziemlich leicht in Äther und Benzol, schwerer in Wasser und fast gar nicht in Petroläther.

Beim Erwärmen mit verdünnten Mineralsäuren wird das Glucosid rasch gespalten. Ebenso wirkt Emulsin, wie folgender Versuch zeigt.

0,0644 g Glucosid wurden in 10 ccm H_2O gelöst, mit einigen Tropfen Chloroform und 0,065 g Emulsin versetzt. Nach 2 tägigem Aufbewahren bei 37° wurde die nach Citronellol stark riechende Lösung mit Natriumacetat gefällt und filtriert. Die Titration mit Fehlingscher Lösung ergab 0,0343 g Glucose, während 0,0364 g entstehen konnten. Das entspricht 94 % der Theorie.

Cyclohexanol-tetraacetyl-d-glucosid, $C_6H_{11}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

40 g Cyclohexanol wurden mit 100 ccm absoluten Äthers verdünnt und nach Zugabe von 9 g Acetobromglucose und 8 g Silbercarbonat 4 Tage bei Zimmertemperatur auf der Maschine geschüttelt. Darauf wurde noch die gleiche Menge von Acetobromglucose bzw. Silbercarbonat hinzugefügt. Nach weiteren 3 Tagen wurden je 9 g Acetobromglucose bzw. Silbercarbonat eingetragen und mit dem Schütteln ca. 4 Tage fortgefahren.

Die ätherische Lösung wurde filtriert und der Rückstand mit Äther gewaschen. Nach dem Verjagen des Äthers blieb ein weißer Krystallbrei zurück, der durch Wasserdampf vom überschüssigen Cyclohexanol befreit wurde. Nach dem Erkalten erstarrte die Substanz sofort krystallinisch. Zur Reinigung wurde sie in Aceton gelöst, die Lösung filtriert und spontan verdunsten gelassen. Die ausgeschiedene Krystallmasse wurde in heißem Alkohol gelöst, mit kochendem Wasser zur bleibenden Trübung versetzt und allmählich erkalten gelassen. Auf diese Weise wurden prachtvolle, über 1 cm lange, glänzende Nadeln erhalten. Die im Vakuumexsiccator zur Gewichtskonstanz getrocknete, reine Substanz wog 22 g. Auf die Menge der Acetobromglucose berechnet betrug die Ausbeute 77,7 % der Theorie.

0,1501 g Substanz gaben 0,3060 g CO_2 und 0,0922 g H_2O.

Ber. für $C_{20}H_{30}O_{10}$ (430,24):	Gef.:
C = 55,78 %	55,60 %
H = 7,03 %	6,87 %.

Das Tetraacetylglucosid bildet lange, farblose, glänzende, ziemlich derbe Nadeln, die bei 119 bis 120° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit schmelzen. Es löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol und Essigester, leicht in Methylalkohol, ziemlich leicht in Äther, schwerer in kaltem Alkohol, sehr schwer in kochendem Wasser und gar nicht in Petroläther.

Cyclohexanol-d-glucosid, $C_6H_{11}O.C_6H_{11}O_5$.

4 g Tetraacetylglucosid, in 75 ccm Alkohol gelöst, wurden in die Lösung von 16 g reinem wasserhaltigen Bariumhydroxyd

und 240 g Wasser eingetragen. Unter zeitweiligem Schütteln wurde die Mischung bei 50 bis 60° aufbewahrt. Nach ca. 12 Stunden war alles in Lösung gegangen. Dann wurde der Baryt mit Kohlensäure gefällt, das Filtrat unter geringem Druck zur Trockne verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht. Beim Verdunsten des Alkohols im Vakuum fiel das Glucosid in farblosen Nadeln aus. Zur völligen Reinigung wurden dieselben in siedendem Essigester gelöst und die Lösung nach Zugabe von warmem Ligroin bis zur leichten Trübung zuerst an der Luft, dann im Eisschrank und schließlich in Kältemischung erkalten gelassen. Hierbei schied sich das Glucosid in farblosen, matten, kugelförmigen Krystallaggregaten aus. Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz 2,2 g oder 84,5% der Theorie.

0,1506 g Substanz (im Vakuum bei 8 mm und 125° getr.) gaben 0,3036 g CO_2 und 0,1139 g H_2O.

Ber. für $C_{12}H_{22}O_6$ (262,176):	Gef.:
C = 54,92%	54,98%
H = 8,46%	8,46%.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,2779 g; Gesamtgewicht der Lösung 8,7981 g; $p = 3{,}1586$; $d^{20}/_4 = 0{,}8041$; $l = 1$ dcm; $\alpha = -1{,}08°$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20°} = -42{,}52°.$$

Das wasserfreie Cyclohexanolglucosid bildet farblose, matte, zu kugelförmigen Warzen verwachsene, sehr bitter schmeckende Nädelchen, schmilzt nach vorhergehendem Sintern bei 133 bis 135° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit. Es löst sich sehr leicht in Methylalkohol, leicht in Aceton, Chloroform, Äthylalkohol und Wasser, schwerer in Essigester, ziemlich schwer in Äther, noch schwerer in Benzol und gar nicht in Petroläther.

Das krystallwasserhaltige Glucosid bekommt man, wenn man wasserfreies Glucosid in siedendem Essigester löst, einige Tropfen Wasser zufügt und an der Luft stehen läßt. Das wasserhaltige Glucosid krystallisiert in langen, wohlausgebildeten, biegsamen, glänzenden Nadeln, die, nach vorhergehendem Sintern,

bei 128,5 bis 129,5° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit unter Aufschäumen schmelzen. Schon beim Aufbewahren im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure verliert das im gewöhnlichen Exsiccator zur Gewichtskonstanz getrocknete Glucosid teilweise das Krystallwasser, indem die Krystalle den Glanz verlieren und an Gewicht abnehmen. Völlig wasserfrei wird es jedoch erst im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 8 mm und 125°.

Das Glucosid wird von kochenden, verdünnten Mineralsäuren rasch hydrolysiert. Emulsin wirkt träger, wie folgender Versuch zeigt: 0,0734 g wasserfreien Glucosids wurden in 10 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von 0,07 g Emulsin nebst einigen Tropfen Chloroform 2 Tage im Brutschrank aufbewahrt. Die Menge der Glucose betrug 29 % der Theorie.

Terpineol-32°-tetraacetyl-d-glucosid,

$C_{10}H_{17}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

Eine Lösung von 30 g Terpineol-32° in 75 ccm absoluten Äthers wurde mit einer Lösung von 20 g Acetobromglucose in 75 ccm absoluten Äthers und 15 g frischbereiteten Silbercarbonats 5 Tage auf der Maschine geschüttelt. Darauf wurde die ätherische Lösung filtriert und der Äther verjagt. Die zurückgebliebene dicke Flüssigkeit wurde im Dampfstrom vom überschüssigen Terpineol befreit. Beim Erkalten erstarrte der im Kolben gebliebene braune Rückstand krystallinisch. Derselbe wurde durch Auflösen in Aceton und Filtrieren von Silberresten befreit und die Lösung spontan verdunsten gelassen, wobei der Acetylkörper in Nadeln herauskam. Zur völligen Reinigung wurden die Krystalle aus kochendem Alkohol unter Zusatz von heißem Wasser umkrystallisiert. Ausbeute 3,8 g oder 16,1 % der Theorie.

0,1117 g Substanz gaben 0,2433 g CO_2 und 0,075 H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{36}O_{10}$ (484,288):	Gef.:
C = 59,47 %	59,40 %
H = 7,49 %	7,51 %.

Das Tetraacetylglucosid krystallisiert in langen, biegsamen, glänzenden Nadeln, schmilzt bei 114 bis 116° (korr.) zu einer

farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol und Essigester, leicht in Methylalkohol und Äther, ziemlich leicht in Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und gar nicht in Petroläther.

Terpineol-32°-d-glucosid,

$C_{10}H_{17}O.C_6H_{11}O_5$.

3,3 g Tetraacetylglucosid wurden durch 15 g Baryt in 200 g Wasser und 70 ccm Alkohol bei 50 bis 60° verseift. Der Baryt wurde mit Kohlensäure gefällt, das Filtrat unter geringem Druck zur Trockne verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht. Beim Verjagen des Alkohols im Vakuum fiel das Glucosid krystallinisch aus. Es wurde in siedendem Essigester gelöst, daraus durch vorsichtigen Zusatz von heißem Ligroin zur bleibenden Trübung und allmähliches Abkühlen in feinen, farblosen Nadeln ausgeschieden. Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz 2,25 g oder 98,7 °/₀ der Theorie.

0,1494 g Substanz (bei 8 mm und 56° getr.) gaben 0,3322 g CO_2 und 0,1184 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6$ (316,224):	Gef.:
C = 60,72 °/₀	60,64 °/₀
H = 8,93 °/₀	8,87 °/₀.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,2092 g; Gesamtgewicht der Lösung: 9,1580 g; $l = 1$ dcm; $p = 2,2843$; $d^{20}/_4 = 0,8003$; $\alpha = -0,20°$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20°} = -10,94°.$$

Das wasserfreie Glucosid krystallisiert in farblosen, biegsamen Nadeln, die keinen scharfen Schmelzpunkt besitzen. Im Capillarrohr erhitzt, beginnt die Substanz gegen 50° zu sintern und ist erst bei ca. 90° zu einer farblosen Flüssigkeit mit deutlichem Meniscus geschmolzen. Es schmeckt sehr bitter und löst sich sehr leicht in Aceton, leicht in Chloroform, Essigester, Methyl- und Äthylalkohol, nicht besonders leicht in Äther und Wasser, schwerer in Benzol und fast gar nicht in Petroläther.

Das krystallwasserhaltige Glucosid entsteht, wenn man wasserfreies Glucosid aus Essigester unter Zusatz von Wasser umkrystallisiert. Es bildet prachtvolle, lange, glänzende Nadeln, die, nach vorhergehendem Sintern, scharf bei 80,5 bis 82,5° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit unter Aufschäumen schmelzen und 1 Mol. Krystallwasser enthalten, das im Vakuum über Phosphorpentoxyd teilweise schon bei Zimmertemperatur, völlig bei ca. 60° verschwindet.

0,9344 g krystallwasserhaltigen Glucosids verloren im Vakuum bei 8 mm und 56°, zur Gewichtskonstanz erhitzt, 0,0495 g Wasser.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6 + H_2O$:	Gef.:
$H_2O = 5{,}39\,\%$.	$5{,}30\,\%$.

Beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren wird das Glucosid ziemlich rasch, durch Emulsin dagegen langsam hydrolysiert: 0,0834 g wasserfreien Glucosids, in 10 ccm Wasser gelöst, wurden durch 0,080 g Emulsin in 48 Stunden bei 37° zu 30 % gespalten.

Terpineol-35°-tetraacetyl-d-glucosid,

$$C_{10}H_{17}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4.$$

Zu der Lösung von 20 g Terpineol-35° und 18 g Acetobromglucose in 100 ccm absoluten Äthers wurden 10 g Silbercarbonat hinzugefügt und 5 Tage auf der Maschine geschüttelt.

Die ätherische Lösung wurde filtriert, der Äther verjagt, der zähflüssige Rückstand mit Wasserdampf behandelt und die im Destillierkolben zurückgebliebene bräunliche, bröcklige Masse in Aceton gelöst. Beim spontanen Verdunsten der Lösung kam der Acetylkörper in langen Nadeln heraus. Zur völligen Reinigung wurde die Substanz aus kochendem Alkohol unter Zusatz von heißem Wasser umkrystallisiert. Ausbeute an reiner Substanz 3,85 g, oder auf die angewandte Menge der Acetobromglucose berechnet 18,2 % der Theorie.

0,1365 g Substanz gaben 0,2979 g CO_2 und 0,0936 g H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{36}O_{10}$ (484,288):	Gef.:
$C = 59{,}47\,\%$	$59{,}52\,\%$
$H = 7{,}49\,\%$.	$7{,}67\,\%$.

Das Tetraacetylglucosid bildet lange, glänzende, biegsame Nadeln, schmilzt bei 130 bis 132° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol und Essigester, leicht in Äther, etwas schwerer in Methyl- und Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und kaum in Petroläther.

Terpineol-35°-d-glucosid,

$C_{10}H_{17}O . C_6H_{11}O_5$.

1,85 g Tetraacetylglucosid wurden durch 8 g Bariumhydroxyd in 150 g Wasser und 30 ccm Alkohol bei 50 bis 60° verseift, der Baryt mit Kohlensäure gefällt, das Filtrat im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht. Beim Verdunsten der alkoholischen Lösung unter vermindertem Druck schied sich das Glucosid krystallinisch aus. Es wurde zur Reinigung in Essigester gelöst und die Lösung spontan verdunsten gelassen. Hierbei blieb ein gelblicher Sirup zurück, in dem nach 7 tägigem Aufbewahren im Eisschrank bis 3 cm lange Nadeln sich eingebettet erschienen. Ein Krystall wurde zum Impfmaterial herausgenommen, die Hauptmasse in siedendem Essigester gelöst, die Lösung mit Ligroin bis zur leichten Trübung versetzt, darauf geimpft und in Eis-Kochsalzmischung abgekühlt. Hierbei fiel das Glucosid in farblosen Nadeln aus. Ausbeute an reiner Substanz 1 g oder 78,3 % der Theorie.

0,1256 g Substanz (bei 8 mm und ca. 80° getrocknet) gaben 0,2776 g CO_2 und 0,0999 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6$ (316,224):	Gef.:
C = 60,72 %	60,71 %
H = 8,93 %.	8,96 %.

Zur optischen Bestimmung wurde das Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,1665 g; Gesamtgewicht der Lösung: 8,6950 g; $p = 1,9149$; $d^{20}/_4 = 0,7992$; $l = 1$ dcm; $\alpha = -0,09°$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20°} = -5,88°.$$

Das wasserfreie Glucosid bildet farblose Nadeln, sintert gegen 100° (korr.) und ist erst gegen 110° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit geschmolzen. Es schmeckt sehr bitter,

löst sich leicht in Chloroform, Essigester, Aceton, Methyl- und Äthylalkohol, nicht besonders leicht in Wasser, schwer in Äther und Benzol, gar nicht in Petroläther.

Das krystallwasserhaltige Glucosid bekommt man, wenn man die wasserfreie Substanz aus wenig siedendem Wasser umkrystallisiert, oder auch, wenn man zu einer Essigesterlösung des Glucosids einige Tropfen Wasser zufügt und unter Reiben mit einem Glasstabe stark abkühlt. Das wasserhaltige Glucosid bildet prachtvolle, glänzende, biegsame Nadeln, schmilzt bei 106 bis 108^0 (korr.) unter Aufschäumen zu einer farblosen Flüssigkeit, verliert unter vermindertem Druck sein Krystallwasser, teilweise schon bei Zimmertemperatur, völlig jedoch erst im Vakuum bei 8 mm und ca. 80^0.

Durch verdünnte Mineralsäuren wird das Glucosid in der Siedehitze rasch gespalten. Emulsin bewirkt auch Hydrolyse, obwohl träger: 0,077 g wasserfreien Glucosids wurden in 10 ccm Wasser gelöst und mit 0,075 g Emulsin nebst einigen Tropfen Chloroform versetzt. Nach 48 stündigem Aufbewahren im Brutschrank ergab die Titration 0,0147 g Glucose, d. h. 33 $^0/_0$ der Theorie.

d-Dihydrocarveol-tetraacetyl-d-glucosid, $C_{10}H_{17}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

In die Lösung von 30 g d-Dihydrocarveol (Siedepunkt 220 bis 224^0 und $[\alpha]_D^{20^\circ} = +16,88^0$) und 20 g Acetobromglucose in 150 ccm absoluten Äthers wurden 15 g Silbercarbonat eingetragen und die Mischung ca. 5 Tage auf der Maschine geschüttelt. Darauf wurde der Silberniederschlag abfiltriert, der Äther verjagt, die dicke Flüssigkeit vom überschüssigen Dihydrocarveol durch Wasserdampf befreit und der bräunliche, bröcklige, nicht flüchtige Rückstand in Aceton gelöst. Beim spontanen Verdunsten der Lösung schied sich der Acetylkörper in Nadeln aus. Zur völligen Reinigung wurde die Substanz in heißem Alkohol gelöst, die Lösung mit kochendem Wasser zur leichten Trübung versetzt und allmählich abgekühlt. Nach einer halben Stunde erstarrte die Lösung zu einem Krystallbrei, der abgesaugt, mit Alkohol-Petroläther (1:1) gewaschen und im Vakuum getrocknet wurde.

Ausbeute an trockener und analysenreiner Substanz 7,5 g oder 32 % der Theorie, auf die Menge der Acetobromglucose berechnet.

0,1764 g Substanz gaben 0,3875 g CO_2 und 0,1156 g H_2O.
0,1538 g " " 0,3366 g CO_2 " 0,1006 g H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{36}O_{10}$ (484,288):	Gef.:	
C = 59,47 %	59,91 %	59,69 %
H = 7,49 %.	7,33 %	7,32 %.

Das Tetraacetylglucosid bildet farblose, biegsame Nadeln, die eine Länge von über 2 cm erreichen können, schmilzt bei 155 bis 156° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol und Essigester, leicht in Äther, schwerer in Methyl- und Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und gar nicht in Petroläther.

d-Dihydrocarveol-d-glucosid,

$C_{10}H_{17}O.C_6H_{11}O_5$.

4 g feinpulverisiertes Tetraacetylglucosid wurden in die Lösung von 16 g frisch umkrystallisiertem Bariumhydroxyd in 250 g Wasser und 75 ccm Alkohol unter Umrühren eingetragen. Nach 10stündlichem Aufbewahren bei 50 bis 60° war alles in Lösung gegangen. Die durch Kohlensäure vom Baryt befreite Lösung wurde im Vakuum zur Trockne verdampft. Sobald der Alkohol überdestilliert war, fiel das Glucosid krystallinisch aus und der Inhalt des Kolbens begann stark zu schäumen. Um dies hintanzuhalten, mußte man von Zeit zu Zeit kleine Mengen von Alkohol durch das Capillarrohr hineinfließen lassen. Der trockene Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht. Nach dem Verjagen des Alkohols unter vermindertem Druck blieb das Glucosid in farblosen Nadeln zurück. Durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser wurde es völlig rein erhalten. Ausbeute fast quantitativ.

0,1096 g Substanz (bei 8 mm und 125° getr.) gaben 0,2428 g CO_2 und 0,0884 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6$ (316,224):	Gef.:
C = 60,72 %	60,42 %
H = 8,93 %	9,02 %.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,1248 g; Gesamtgewicht der Lösung: 8,6538 g; $p = 1,4421$; $d^{20}/_4 = 0,7976$; $l = 1$ dcm; $\alpha = +0,56^0$ (bei 20^0 und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20^0} = +36,52^0.$$

Das krystallwasserhaltige Glucosid bildet farblose, glänzende, 1 bis 2 cm lange, biegsame, sehr bitter schmeckende Nadeln, die das Krystallwasser beim Aufbewahren im Vakuumexsiccator verhältnismäßig rasch zum größten Teil verlieren. Wasserfrei schmilzt das Glucosid scharf bei 164 bis 165^0 (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit. Es löst sich sehr leicht in Methylalkohol, leicht in Aceton und Chloroform, ziemlich leicht in Essigester, schwerer in Äthylalkohol, ziemlich schwer in Wasser und Äther, schwer in Benzol und gar nicht in Petroläther.

Von siedenden verdünnten Mineralsäuren wird das Glucosid rasch hydrolysiert, ebenso durch Emulsin, wie aus folgendem Versuche hervorgeht: 0,07 g wasserfreien Glucosids in 10 ccm Wasser gelöst, wurden mit 0,07 g Emulsin und einigen Tropfen Chloroform bei 37^0 aufbewahrt. Nach 48 Stunden betrug die Menge der Glucose 0,030 g oder 75$^0/_0$ der Theorie.

cis-Terpin-tetraacetyl-mono-d-glucosid.

Zu der Lösung von 9 g Acetobromglucose in 600 ccm absoluten Äthers wurden 40 g feinpulverisiertes cis-Terpin und 8 g Silbercarbonat hinzugefügt. Nach 3tägigem Schütteln auf der Maschine wurden 9 g Acetobromglucose bzw. 10 g Silbercarbonat eingetragen. Nach weiteren 3 Tagen wurde schließlich die gleiche Menge von Acetobromglucose und Silbercarbonat hinzugesetzt und mit dem Schütteln noch ca. 4 Tage fortgefahren.

Darauf wurde die Lösung von ungelöstem Terpin und dem Silberniederschlage abfiltriert, der Äther verjagt und der feste Rückstand durch Auskochen mit Wasser und Auflösen in Äther von Terpinresten befreit. Beim spontanen Verdunsten der ätherischen Lösung kam der Acetylkörper in farblosen Nädelchen heraus, die zur völligen Reinigung aus heißem, verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurden. Ausbeute an reiner Substanz

9,2 g oder, auf die Menge der Acetobromglucose berechnet, 27,9 % der Theorie.

0,1307 g Substanz gaben 0,2743 g CO_2 und 0,088 g H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{38}O_{11}$ (502,304):	Gef.:
C = 57,34 %	57,24 %
H = 7,63 %	7,53 %.

Das Tetraacetylglucosid krystallisiert in kleinen, farblosen Nädelchen, schmilzt unscharf bei 129 bis 139° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol und Essigester, leicht in Methylalkohol, ziemlich leicht in Äthylalkohol und Äther, sehr schwer in Wasser und gar nicht in Petroläther.

cis-Terpin-mono-d-glucosid,

$C_{10}H_{19}O_2 . C_6H_{11}O_5$.

4 g Tetraacetylglucosid wurden durch 15 g Bariumhydroxyd in 250 g Wasser und 80 ccm Alkohol bei 50 bis 60° verseift. Die in üblicher Weise vom Baryt befreite Lösung wurde im Vakuum zur Trockne verdampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht, der Alkohol unter vermindertem Druck abdestilliert, der zurückgebliebene Sirup in siedendem Essigester gelöst und nach Zugabe von Ligroin zur leichten Trübung unter Reiben mit einem Glasstabe allmählich stark abgekühlt. Hierbei schied sich das Glucosid in farblosen Kryställchen aus. Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz fast quantitativ.

Die Analyse ergab, daß das Glucosid 1 Mol. Krystallwasser enthält:

0,1308 g Substanz (exsiccatortrocken) gaben 0,2609 g CO_2 und 0,1057 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{30}O_7 + H_2O$ (352,256)	Gef.:
C = 54,51 %	54,40 %
H = 9,16 %	9,04 %.

Zur optischen Bestimmung wurde das Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,2636 g; Gesamtgewicht der Lösung: 9,0277 g; $p = 2,9198$; $d^{20}/_4 = 0,8030$; $l = 1$ dcm; $\alpha = -0,26°$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20°} = -11,09°.$$

Das Glucosid bildet farblose, etwas bitter schmeckende Kryställchen, schmilzt bei 143 bis 149° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich leicht in Wasser, Methyl- und Äthylalkohol, ziemlich leicht in Aceton, Äther und Chloroform, schwerer in Essigester, schwer in Benzol und gar nicht in Petroläther.

Von heißen verdünnten Mineralsäuren wird das Glucosid rasch gespalten. Emulsin wirkt viel langsamer, wie folgender Versuch zeigt: 0,0785 g Glucosid wurden in 10 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von 0,08 g Emulsin nebst einigen Tropfen Chloroform 2 Tage bei 37° aufbewahrt. Die Tritation ergab, daß etwa 10% vom Glucosid gespalten worden waren.

Für geschickte Unterstützung bei der Ausführung dieser Versuche bin ich Herrn stud. chem. K. A. Ståhlberg großen Dank schuldig.

Beziehungen zwischen Zuckergehalt der Erythrocyten und Glykolyse.

Von

Adam Loeb.

(Aus dem Städtischen chemisch-physiologischen Institut, Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 7. Februar 1913.)

Nicht veröffentlichte Versuche von J. Wirth, auf die ich weiter unten noch zurückzukommen habe, hatten gezeigt, daß die Blutkörperchen des Rindes und Hammels wenig reduzierende Substanz enthalten, im Gegensatz zu früheren Angaben von Rona und Michaelis[1]) und von Hollinger[2]), die in den Blutkörperchen des Hundes und des Menschen sehr erhebliche Zuckermengen fanden.

Ich habe daher zunächst die eben erwähnten Versuche von Wirth wieder aufgenommen und konnte in der Tat feststellen, daß sich bei verschiedenen Tierarten der Blutzucker in durchaus verschiedenartiger Weise auf die geformten Bestandteile und das Serum verteilt. Im Anschluß an diese Versuche stellte ich Untersuchungen über den Umfang der Glykolyse in eben denselben Blutarten an, in denen ich die Verteilung des Zuckers auf Blutkörperchen und Serum ermittelt hatte. Ich gelangte zu dem Ergebnis, daß sehr enge Beziehungen bestehen zwischen dem Zuckergehalt der Blutkörperchen und dem Umfang der Glykolyse: es zeigte sich nämlich, daß das Blut einer Tierart um so stärker Traubenzucker abbaut, je höher der Zuckergehalt der Blutkörperchen ist. Im Schweineblut z. B., in dem die Blutkörperchen nahezu oder völlig zuckerfrei sind, findet nur eine überaus gering-

[1]) Rona und Michaelis, diese Zeitschr. **16**, 60.

[2]) Hollinger, diese Zeitschr. **17**, 1.

fügige Glykolyse statt, während der Zuckerabbau im Blut vom Menschen und vom Hunde, in dem die Blutkörperchen reich an Zucker sind, unter den gleichen Versuchsbedingungen sehr erhebliche Werte erreicht.

Als der experimentelle Teil meiner Arbeit bereits zum Abschluß gelangt war, erschien eine Veröffentlichung von Masing[1]), aus der hervorgeht, daß die Beteiligung der Blutkörperchen an dem Zuckergehalt des Blutes bei verschiedenen Tierarten eine wechselnde ist. Masing arbeitete zum Teil an denselben Blutarten wie ich. Meine Befunde an diesen Blutarten stimmen völlig mit denen von Masing überein, so daß das Ergebnis meiner Versuche, soweit sie sich auf bloße Feststellung des Gehaltes der Blutkörperchen an Zucker beziehen, im wesentlichen nur als eine Bestätigung derjenigen Masings anzusehen ist.

Methodik.

Das Material zu meinen Versuchen stammte teils aus dem Schlachthaus (Schweine-, Hammel- und Rinderblut), teils wurde es durch Venaepunctio von Hunden ohne Narkose und Fesselung, teils gelegentlich therapeutisch vorgenommener Aderlässe an nicht fiebernden Augenkranken gewonnen[2]). Das Hunde- und Menschenblut wurde in eisgekühlten sterilen Gefäßen aufgefangen und durch Schlagen defibriniert. Auch das aus dem Schlachthaus stammende Material wurde nach dem Defibrinieren so rasch wie möglich, in Eis verpackt, ins Institut verbracht. Die weitere Verarbeitung war bei allen Blutarten dieselbe: das Blut wurde durch sterile Gaze koliert und zum Teil sofort weiter verarbeitet, zum Teil nach einem 90 Minuten langen Aufenthalt in sterilen, mit Glasstopfen verschlossenen Flaschen im Wasserbad von 40°. Sowohl im sofort verarbeiteten Blut (Blut A) wie auch in demjenigen Blutanteil, der erst nach dem Stehen bei 40° zur Verarbeitung gelangte (Blut B), wurden nebeneinander der Zuckergehalt des Gesamtblutes und derjenige des Serums bestimmt. Außerdem wurde jedesmal das

---

[1]) Masing, Arch. f. d. ges. Physiol. **149**, 227.

[2]) Herrn Direktor Dr. Schnaudigel bin ich für die freundliche Überlassung des menschlichen Materials zu besonderem Dank verpflichtet.

Volumen des Serums und damit das der Blutkörperchen nach dem Bleibtreuschen Prinzip festgestellt. Auf Grund der eben erwähnten Bestimmung konnte neben den direkt gewonnenen Zuckerwerten des Serums und des Gesamtblutes auch derjenige der Blutkörperchen vor und nach der Glykolyse rechnerisch ermittelt werden.

Im einzelnen gestaltete sich die Bestimmung des Blutkörperchenvolums und die Zuckérbestimmung im Gesamtblut und Serum folgendermaßen:

I. Zur Bestimmung des Blutkörperchenvolums wurde eine genau gemessene Blutmenge (ich wandte stets 35 ccm an) auf einer raschlaufenden Zentrifuge während 10 bis 15 Minuten zentrifugiert. Von dem überstehenden Serum wurden 10 ccm mit der Pipette entfernt und statt dessen dem Blute 10 ccm Kochsalzlösung von 0,85 % hinzugefügt; das Zentrifugengläschen wurde nun sorgfältig durchgeschüttelt und abermals zentrifugiert. Wiederum wurde das nunmehr verdünnte Serum abpipettiert. War das Serum noch durch eine geringe Menge von Blutkörperchen getrübt, so wurde es durch nochmaliges Zentrifugieren völlig von diesen befreit. Sowohl in dem unverdünnten, als auch in dem verdünnten Serum wurde der N-Gehalt nach Kjeldahl in Doppelanalysen ermittelt. Das Volumen des Serums konnte unter der bei Anwendung isotonischer Kochsalzlösung sehr annähernd zutreffenden Voraussetzung, daß die Blutkörperchen durch den Zusatz der Salzlösung ihr Volumen nicht änderten, in einfacher Weise berechnet werden.

II. Zur Zuckerbestimmung im Gesamtblut und im Serum wurde das Blut bzw. Serum zunächst nach der Methode von Schenck enteiweißt, d. h. es wurde mit dem gleichen Volumen Wasser, alsdann mit dem doppelten Volumen Salzsäure von 2 % und zum Schluß ebenfalls mit dem doppelten Volumen einer 5 %igen Sublimatlösung versetzt und blieb über Nacht im Eisschrank stehen. Am nächsten Morgen wurde die Flüssigkeit abgesaugt, die klaren Filtrate mit Schwefelwasserstoff entquecksilbert, dieser durch einen Luftstrom verjagt, und gemessene, in jedem Einzelversuch untereinander gleiche Mengen des Filtrates bei ganz schwach saurer Reaktion im Vakuum eingeengt; dann wurde auf ein bestimmtes kleines

Volumen aufgefüllt, und diese Menge zu Zuckerbestimmungen nach Tachau[1]) und in den meisten Fällen auch nach Maquenne[2]) verwandt.

Der Zuckergehalt der Blutkörperchen wurde unter Zugrundelegung des jedesmal bestimmten Blutkörperchenvolums aus dem Zuckergehalt des Gesamtblutes und des Serums berechnet. Die Genauigkeit dieser Berechnung ist um so größer, je größer der Zuckergehalt der Blutkörperchen ist. Dort, wo dieser wie beim Schweineblut und Hammelblut nur sehr gering ist, nähert sich der rechnerisch ermittelte Wert für die Blutkörperchen sehr stark den Fehlergrenzen der Bestimmung.

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind in nebenstehender Tabelle I zusammengestellt.

Aus der Kolonne 4 dieser Tabelle geht das Blutkörperchenvolumen in jedem einzelnen Versuch hervor. Die Kolonnen 5 bis 10 geben Aufschluß über die Zuckerverteilung im sofort verarbeiteten Blut (Blut A), die Kolonnen 11 bis 16 weisen die gleichen Werte nach 90 Minuten langem Stehen bei 40° (Blut B) auf. Aus der Kolonne 5 ist der Zuckergehalt in 100 ccm Gesamtblut A in Milligramm ersichtlich. Aus Kolonne 7 geht hervor, wieviel von diesem Zucker in der Serummenge aus 100 ccm Gesamtblut enthalten ist, während in Kolonne 9 der auf die Blutkörperchen aus 100 ccm Gesamtblut entfallende Zuckeranteil als Differenz der Kolonnen 5 und 7 berechnet ist. Die entsprechenden Werte für das Blut B finden sich in den Kolonnen 11, 13 und 15.

Ohne weiteres geht aus der Tabelle hervor, daß der Zuckergehalt der Blutkörperchen bei den untersuchten Tierarten in ganz charakteristischer Weise verschieden ist. Ein Blick auf die Kolonnen 6, 8 und 10, in denen der Zuckergehalt für je 100 ccm des Gesamtblutes, des Serums und der Blutkörperchen in Gramm angegeben ist, lehrt, daß beim Schwein (Versuche 1 bis 3) fast der gesamte Zucker sich im Serum findet, dessen Zuckergehalt in den drei untersuchten Fällen vor der Glykolyse

---

1) Tachau, Arch. f. klin. Med. 102, 597.
2) Maquenne, Bull. de la Soc. chim. [3], 19, 926.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Vers.-Nr.	Datum	Tierart	Blutkörperch. Volumen-%	Zucker vor Glykolyse in 100 ccm Blut A						Zucker nach Glykolyse in 100 ccm Blut B						Zuckerschwund in 100 ccm Blut					
				Gesamtblut		Serum		Körperchen		Gesamtblut		Serum		Körperchen		Gesamtblut		Serum		Körperchen	
				mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
1	18. XII. 11	Schwein	40,10	64,17	0,0642	60,32	0,1007	3,85	0,0096	61,92	0,0619	61,04	0,1019	0,90	0,0022	2,25	3,5	0,72	1,2 Zunahme	2,95	76
2	4. I. 12	„	39,50	63,16	0,0632	58,39	0,0965	4,77	0,0120	62,00	0,0620	59,82	0,0989	2,18	0,0055	1,16	1,8	1,43	2,4 Zunahme	2,59	54
3	29. I. 12	„	40,57	71,70	0,0717	66,40	0,1117	5,30	0,0130	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	8. I. 12	Hammel	30,90	53,15	0,0531	50,96	0,0738	2,19	0,0071	40,55	0,0406	41,13	0,0595	0	0	12,60	23,7	9,80	19,3	2,20	100
5	16. I. 12	„	37,23	46,50	0,0465	41,40	0,0659	5,10	0,0137	37,80	0,0378	39,20	0,0625	0	0	8,70	18,7	2,20	5,3	5,10	100
6	27. XI. 11	Rind	40,03	64,40	0,0644	58,50	0,0975	7,90	0,0198	55,00	0,0550	54,00	0,0900	1,00	0,0025	11,40	17,7	4,50	7,7	6,90	87
7	1. XII. 11	„	43,76	54,00	0,0540	44,20	0,0823	9,80	0,0223	45,70	0,0457	38,80	0,0690	6,90	0,0151	8,30	15,4	5,40	12,2	2,90	30
8	7. XII. 11	„	42,54	62,06	0,0621	55,85	0,0972	6,21	0,0146	59,99	0,0600	52,79	0,0919	7,19	0,0170	2,08	3,3	3,06	5,5	0,98	15,8 Zunahme
9	12. XII. 11	„	38,93	68,90	0,0689	62,40	0,1023	6,50	0,0167	62,60	0,0626	58,30	0,0955	4,30	0,0110	6,30	9,1	4,10	6,6	2,20	34
10	11. I. 12	Hund	35,82	62,57	0,0626	54,64	0,0851	7,90	0,0221	23,35	0,0234	15,51	0,0242	7,84	0,0218	39,20	62,7	39,10	71,6	0,10	1,1
11	20. I. 12	„	45,97	62,10	0,0621	47,10	0,0871	15,00	0,0326	32,00	0,0320	20,40	0,0377	11,60	0,0252	30,10	48,5	26,70	56,7	3,40	22,7
12	15. I. 12	Mensch	50,46	102,10	0,1021	51,89	0,1048	50,23	0,0995	78,00	0,0780	39,91	0,0806	38,09	0,0755	24,12	23,6	11,98	23,1	12,14	24,2
13	22. I. 12	„	47,00	100,60	0,1006	46,10	0,0870	54,50	0,1160	80,10	0,0801	45,10	0,0851	35,00	0,0744	20,50	20,4	1,00	2,1	19,50	35,8

sich in der Nähe von 0,1 % bewegt, während der entsprechende Wert für die Blutkörperchen nur etwa $^1/_{10}$ bis $^1/_8$ so groß ist. Gerade beim Schwein sind die Werte für den Zuckergehalt der Blutkörperchen so niedrig, daß sie sich der Fehlergrenze der Bestimmung zum mindesten sehr nähern, vielleicht in dieselbe fallen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Hammel (Versuche 4 und 5), nur daß hier der Zuckergehalt des Serums etwas geringer (in der Nähe von 0,07 %) liegt. Auch hier ist der Zuckergehalt der Blutkörperchen ein sehr geringfügiger.

Etwas mehr als bei den eben besprochenen Tierarten beteiligen sich die Blutkörperchen an dem Zuckergehalt des Blutes beim Rind (Versuche 6 bis 9). Der Zuckergehalt der Blutkörperchen schwankt hier zwischen 0,0146 und 0,0198 %, während der Serumzucker zwischen annähernd 0,08 und 0,1 % variiert.

Noch erheblicher ist der Zuckergehalt der Hundeblutkörperchen (Versuche 10 und 11): 0,0221 und 0,0326 %, während der Zuckergehalt des Serums in beiden Fällen zwischen 0,08 und 0,09 % liegt.

Bei weitem am höchsten ist der Zuckergehalt der Blutkörperchen beim Menschen, wo er in den beiden von mir untersuchten Fällen 0,10 bzw. 0,116 % beträgt und damit dem Zuckergehalt des Serums gleichkommt (Versuch 12) oder ihn sogar übertrifft (Versuch 13), was ganz den früher von Hollinger gewonnenen Erfahrungen entspricht.

Außer den Zuckerbestimmungen nach Tachau habe ich in der Mehrzahl meiner Versuche auch Bestimmungen nach Maquenne angestellt; übereinstimmend mit früheren Erfahrungen von Hollinger, daß die Maquennesche Methode etwas höhere Werte liefert als das Titrationsverfahren nach Knapp, konnte auch ich feststellen, daß die Maquenne-Werte höher als die mit der Tachauschen Methode erhaltenen waren. Hiervon macht nur das Schweineblut eine Ausnahme. Im Serum waren auch hier die nach Maquenne gewonnenen Werte merklich höher als die nach Tachau erhaltenen, während im Gesamtblut, ganz im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Blutarten, die Maquenne-Werte niedriger als die nach Tachau gewonnenen waren. Vor allem aber führten Bestimmungen

nach Maquenne am Schweineblut zu dem ganz unmöglichen Ergebnis, daß im Serum aus 100 ccm Gesamtblut mehr Zucker als in 100 ccm Gesamtblut war. Ich habe die nach Maquenne gewonnenen Ergebnisse in meine Tabelle nicht aufgenommen. Hingegen möchte ich an dieser Stelle nochmals darauf hinweisen, daß die eingangs erwähnten unveröffentlichten Versuche von Wirth, der sich der Maquenneschen Methode bediente, zu ganz ähnlichen Ergebnissen wie meine neueren Versuche führten. Herr Stabsarzt Dr. Wirth hatte die Liebenswürdigkeit, mir seine Versuchsergebnisse zur Verfügung zu stellen. Die folgende Tabelle II gibt seine Resultate wieder, soweit sie sich auf Blutarten mit sehr geringem Zuckergehalt der Blutkörperchen beziehen. Aus den eben besprochenen Gründen sind seine Untersuchungen am Schweineblut weggelassen.

Tabelle II.

Tierart	Blutkörperchenvolumen ccm	Zuckergehalt in %		
		Gesamtblut	Serum	Blutkörperchen
Rind	—	0,049	0,073	—
"	—	0,040	0,063	—
"	—	0,048	0,078	—
"	—	0,055	0,080	—
"	40,0	0,084	0,135	0,007
"	42,4	0,050	0,080	0,009
Hammel	32,0	0,060	0,077	0,025
"	27,6	0,054	0,078	0,0
Steinbock	—	0,087	0,138	—

Glykolyse.

Wenden wir uns nunmehr zu dem Umfang des Zuckerschwundes in den verschiedenen Blutarten, so sehen wir, daß die Menge des verschwundenen Zuckers überaus geringfügig ist beim Schwein, wo sie namentlich in Versuch 2 innerhalb der Fehlergrenzen der Bestimmung gelegen ist. Rechnerisch sind in Versuch 1 etwa 2 mg, in Versuch 2 etwa 1 mg Zucker aus 100 ccm Blut verschwunden. Im Serum war in beiden Fällen keinerlei Abnahme erkennbar; im Gegenteil, es zeigte sich eine ganz geringe Zunahme des Serumzuckergehaltes. Ich muß die Frage offen lassen, ob es sich hier um einen reinen Bestimmungsfehler oder um das Freiwerden von Zucker aus einer Zucker-

vorstufe (virtueller Zucker Lépines) handelt[1]). Wie dem auch sein mag, soviel steht fest, daß im Blute des Schweines, dessen Blutkörperchen überaus zuckerarm sind, die Glykolyse unter den von mir gewählten Versuchsbedingungen eine kaum meßbare Größe besitzt.

In den zwei an Hammelblut unternommenen Versuchen ist eine schwache, aber deutliche Abnahme vorhanden, die in Versuch 4 annähernd 13 mg, in Versuch 5 ungefähr 9 mg pro 100 ccm Gesamtblut beträgt. Die Abnahme des Zuckergehaltes des Serums ist namentlich in Versuch 4 ganz deutlich, in Versuch 5 immerhin angedeutet. In den Blutkörperchen ist am Ende des Versuches in diesen Fällen Zucker überhaupt nicht vorhanden. In beiden Versuchen ist der Zuckerwert für das Serum aus 100 ccm Gesamtblut B sogar um ein ganz Geringes höher als der für das Gesamtblut ermittelte Wert, was natürlich durch einen methodischen Fehler bedingt sein muß. Das Hammelblut des Versuches 4 fällt übrigens wegen veränderter Versuchsbedingungen — es hatte eine partielle Nachgerinnung erfahren und weist, wohl im Zusammenhang damit, das verminderte Blutkörperchenvolumen von 31 % auf — aus dem Rahmen der sonst direkt untereinander vergleichbaren Versuche heraus.

Der Zuckerschwund beim Rind (Versuche 6 bis 9) schwankt zwischen 2 und 11 mg pro 100 ccm Gesamtblut. Er ist am geringsten in Versuch 8, wo der Zuckergehalt der Blutkörperchen vor dem Versuche am geringfügigsten war. Wenn wir von diesem Versuche mit der minimalen Glykolyse absehen, so sind an der Zuckerabnahme sowohl das Serum wie die Blutkörperchen beteiligt. In Prozenten des Ausgangswertes (Kolonne 22) ist diese Zuckerabnahme in den Blutkörperchen weitaus größer (30 bis 87 %) als im Serum (Kolonne 20) mit 6,6 bis 12 %.

Von allen von mir untersuchten Tieren weist der Hund die stärkste Glykolyse auf (Versuche 10 und 11). Die Zuckerabnahme in 100 ccm Gesamtblut beträgt hier 30 bzw. 39 mg (Kolonne 17), entsprechend 48 und 63 % (Kolonne 18) des Ausgangswertes. Die gesamte oder annähernd die gesamte Abnahme

[1]) Es wäre auch nicht völlig ausgeschlossen, daß es sich um einen Austritt von Zucker aus den Blutkörperchen ins Serum handelt.

geschieht hier auf Kosten des Serums, während der Zuckergehalt der Blutkörperchen sich nur um ein sehr Geringes geändert hat.

In dem ersten Versuche am Menschen (Versuch 12), wo die Abnahme 24 mg pro 100 ccm Gesamtblut beträgt, sind an dieser Abnahme Blutkörperchen und Serum annähernd gleichmäßig beteiligt. In Versuch 13 ist die Abnahme praktisch auf Kosten der Blutkörperchen erfolgt.

Ich möchte nun die eben beschriebenen Tatsachen einer kurzen Erörterung unterziehen. Auf den ersten Blick ist auffällig, daß diejenigen Blutarten, in denen die Blutkörperchen nur geringe Zuckermengen enthalten, eine schwache Glykolyse aufweisen, ja daß die Glykolyse hier fast fehlen kann, während im allgemeinen mit steigendem Zuckergehalt der Blutkörperchen auch die glykolytische Fähigkeit des Blutes zunimmt. Das spricht zunächst vor allem dafür, daß die Glykolyse aufs engste mit dem Zuckergehalt der Blutkörperchen zusammenhängt, und daß die glykolytische Fähigkeit keine ausschließliche Eigenschaft der weißen Blutkörperchen ist, sondern auch den roten Blutkörperchen zukommt.

Zu diesem Ergebnis sind auf einem anderen Wege als dem hier beschrittenen in einer soeben erschienenen Mitteilung auch Rona und Arnheim[1]) gelangt.

Masing konnte in seiner eingangs erwähnten Arbeit dartun, daß diejenigen Blutkörperchen, die von vornherein viel Zucker enthalten, ihrer Umgebungsflüssigkeit zugesetzten Zucker relativ leicht aufnehmen, während die Aufnahmefähigkeit für Zucker um so geringer gefunden wird, je geringer der natürliche Zuckergehalt der betreffenden Blutkörperchen ist. Im Zusammenhalt der von Masing und mir gewonnenen Ergebnisse zeigt sich also, daß ein Parallelismus besteht zwischen dem natürlichen Zuckergehalt der Blutkörperchen, der Durchlässigkeit der Blutkörperchen für Zucker und dem Umfange der Glykolyse im Blute. Dieser Zusammenhang erscheint ohne weiteres verständlich: In den Blutarten, die nur eine schwache Glykolyse zeigen, kommt es anscheinend deswegen nur zu einem geringen Zucker-

---

[1]) Rona und Arnheim, diese Zeitschr. 48, 35.

schwund, weil der Zucker nur schwer an die Stätten, an denen sein Abbau sich vollzieht, gelangen kann. Natürlich ist nicht völlig ausgeschlossen, ja nach dem, was wir über Anpassung von Zelltätigkeit an die dargebotenen Nahrungsstoffe wissen, sogar bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich, daß auch die glykolytische Fähigkeit zuckerarmer Blutkörperchen an sich geringer als die zuckerreicher ist.

Der jeweilige Zuckergehalt der Blutkörperchen wird allem Anschein nach von zwei Faktoren beherrscht: einmal von dem Umfang des zwischen Plasma und Blutkörperchen stattfindenden Zuckeraustausches und zweitens von dem Abbau des Zuckers in den Blutkörperchen, der, wie wir aus neueren Untersuchungen Embdens und seiner Mitarbeiter wissen, im wesentlichen eine Spaltung des Zuckermoleküls unter Milchsäurebildung darstellt.

Unter Berücksichtigung der beiden eben besprochenen Faktoren scheinen meine an den verschiedenen Tierarten gewonnenen Ergebnisse ohne weiteres verständlich und von einheitlichen Gesichtspunkten aus erklärbar.

Die Geringfügigkeit der Glykolyse im Schweineblut[1])

[1]) In einer eben erschienenen Mitteilung weisen Carlson und Drennan (Journ. of Biolog. Chem. 13, 465) auf die merkwürdige Tatsache hin, daß das Schwein eine „an das Pathologische grenzende Intoleranz gegen Traubenzucker“ hat: so schied z. B. ein etwa 8 kg schweres Schwein von 2,5 g auf den leeren Magen gegebener Glucose innerhalb 2 Stunden 0,38 im Urin aus. Ebenso konnten Carlson und Drennan leicht Glucosurie ex amylo erzielen. Vielleicht kommt folgender Erklärungsversuch der Wirklichkeit nahe: bei jedem Tiere entgehen bei der Verdauung Zuckermengen der sofortigen Fixierung in der Leber. Wenn nun trotzdem beim Hunde und beim Menschen im Gegensatz zum Schwein für gewöhnlich keine Zuckerausscheidung auftritt, liegt es nahe, abgesehen von etwa verschiedener Zuckerdichtigkeit der Niere, an die Unterschiede in der Zuckerverteilung im Blute zu denken. So wird beim Menschen und beim Hunde ein eventueller Überschuß des Zuckers im Plasma eine partielle Ausgleichung finden durch Eintritt in die Erythrocyten, die ihn vielleicht außerdem vermöge ihrer glykolytischen Fähigkeit abbauen. Beim Schweine bleibt dagegen die ganze in die Blutbahn aufgenommene Zuckermenge wegen der Impermeabilität seiner Blutkörperchen im Plasma enthalten. Es leuchtet ein, daß ceteris paribus die allein für Überschreitung des Schwellenwertes der Nierendichtigkeit in Betracht kommende Zuckerkonzentration des Plasmas in derartigen Versuchen beim Schweine höher liegen muß als beim Menschen und beim Hunde.

(wenn man die von mir beobachtete Zuckerabnahme überhaupt als solche anerkennen will) erscheint nach dem eben Gesagten dadurch bedingt, daß die Schweineblutkörperchen nur in sehr geringem Maße für Zucker permeabel sind.

Eindeutiger als beim Schwein, wo die Glykolyse gar zu geringfügig ist, liegen die Verhältnisse beim Hammel, wenngleich der Versuch 4 wegen der oben besprochenen Unzulänglichkeit seiner Anordnung nur mit Vorsicht zu verwenden ist: in beiden Fällen war hier der gesamte am Anfang in den Blutkörperchen enthaltene Zucker zum Schluß des Versuches verschwunden. Bei der geringen Zuckerdurchlässigkeit der Hammelblutkörperchen konnte der Zucker nicht mit einer der Zuckerzerstörung in den Blutkörperchen entsprechenden Geschwindigkeit nachfolgen. Dementsprechend ist aus dem Serum relativ nur sehr wenig Zucker verschwunden.

Analog liegen die Verhältnisse beim Rinderblut. Wenn wir von Versuch 8, in dem kaum eine Glykolyse eintrat, absehen, so erfolgte hier die Glykolyse zu einem sehr wesentlichen Teile auf Kosten des Blutkörperchenzuckers; von ihm sind 30 bis 87% verschwunden, während der Zuckerschwund im Serum zwischen etwa 7 und 12% des Ausgangswertes schwankt.

Im Hundeblut ist der Umfang der Glykolyse am stärksten von allen untersuchten Blutarten. Hier sind, wie schon gesagt, aus 100 ccm Blut 30 bis 39 mg Zucker oder 48 bzw. 63% des Ausgangswertes verschwunden. Trotzdem ist in Versuch 10 kaum eine meßbare Zuckerverarmung der Blutkörperchen eingetreten, und in dem zweiten Versuch tritt der Zuckerverlust der Blutkörperchen mit 3,4 mg ganz außerordentlich hinter den des Serums mit 26,7 mg zurück. Auch dieses Verhalten ist ohne weiteres verständlich unter der Annahme, daß die Hundeblutkörperchen für Zucker gut durchlässig sind, und daß der Zuckeraustausch zwischen Serum und Blutkörperchen in Abhängigkeit steht von dem Konzentrationsgefälle zwischen beiden, derart, daß sich beide auf denselben Zuckergehalt einzustellen suchen. In Versuch 10 ist vor der Glykolyse der Zuckergehalt des Serums mit 0,085% weitaus höher, als der der Blutkörperchen mit 0,022%. Am Ende des Versuches hingegen haben sich beide Werte außerordentlich stark ge-

nähert. Der der Blutkörperchen ist hierbei fast unverändert, der des Serums auf 0,024 % herabgegangen. Unter der Annahme einer sehr guten Durchlässigkeit der Blutkörperchen ist es ohne weiteres verständlich, daß der Zucker aus dem Serum in einem dem Zuckerverbrauch in den roten Blutkörperchen entsprechenden Tempo in die Blutkörperchen nachströmte. — In Versuch 11 ist ebenfalls aus dem Serum weit mehr Zucker als aus den Blutkörperchen verschwunden; der Zuckergehalt des Serums ist von 0,087 auf 0,038 % heruntergegangen, während der der Blutkörperchen nur von 0,033 auf 0,025 % gesunken ist. Der Zuckergehalt des Serums am Ende des Versuches ist also ein wenig größer als der der Blutkörperchen; das Nachströmen des Zuckers in die Blutkörperchen erfolgte hier also nicht ganz in dem Tempo des intraglobulären Zuckerabbaues.

In den beiden an Menschenblut vorgenommenen Versuchen (12 und 13) war zu Anfang des Versuches der Zuckergehalt von Blutkörperchen und Serum ein ähnlicher. In Versuch 12 waren die Körperchen ein wenig zuckerärmer, in Versuch 13 deutlich zuckerreicher als das Serum. Die Glykolyse ist in beiden Versuchen sehr erheblich (24 bzw. 20 mg pro 100 ccm Gesamtblut). Am Ende des Versuches sind in beiden Fällen die Blutkörperchen nur um ein geringes zuckerärmer als das Serum. In Versuch 12 sind nahezu gleiche Mengen Zucker aus Blutkörperchen und Serum verschwunden. In Versuch 13 erfolgte die Glykolyse fast ganz auf Kosten des von vornherein in den Blutkörperchen dem Serum gegenüber enthaltenen Überschusses. Hier reichte die Glykolyse aus, um das im Anfang erhebliche Zuckergefälle von den Blutkörperchen zum Serum in ein geringes Gefälle vom Serum zu den Blutkörperchen zu verwandeln.

Zusammenfassung.

Die wesentlichen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind folgende:

I. In Übereinstimmung mit den soeben veröffentlichten Versuchen von Masing geht aus älteren von Wirth im hiesigen Institut angestellten und aus meinen Versuchen hervor, daß der Gehalt der Blutkörperchen an Zucker bei ver-

schiedenen Tierarten in charakteristischer Weise verschieden ist. Während beim Menschen ganz entsprechend den früheren Angaben Hollingers der Blutkörperchenzucker dem des Serums sehr ähnlich, beim Hunde wesentlich geringer als der des Serums ist, sind die Blutkörperchen vom Schwein und vom Hammel äußerst zuckerarm, und, namentlich unter Berücksichtigung des Blutkörperchenvolums, nur relativ wenig am Zuckergehalt des Gesamtblutes beteiligt, während die Blutkörperchen des Rindes eine Mittelstellung einnehmen.

II. Der Umfang der Glykolyse in dem Blut der verschiedenen von mir untersuchten Tiere steht in gesetzmäßiger Beziehung zu dem Zuckergehalt der Blutkörperchen in dem Sinne, daß starke Glykolyse in Blutarten eintritt, in denen die Blutkörperchen stark zuckerhaltig sind, während die Glykolyse in den Blutarten mit größter Zuckerarmut der Blutkörperchen am schwächsten ist, ja fast auf Null herabsinken kann.

III. Im Zusammenhalt mit der von Masing festgestellten Tatsache, daß diejenigen Blutkörperchenarten, die im nativen Blute einen geringen Zuckergehalt haben, bzw. zuckerfrei sind, zugesetzten Zucker nur wenig oder nicht aufnehmen, während die von vornherein zuckerhaltigen Blutkörperchen sich als durchlässig für zugesetzten Zucker erweisen, gelangte ich zu dem Ergebnis, daß der Umfang der Glykolyse im wesentlichen abhängig ist von der Durchlässigkeit der roten Blutkörperchen für Zucker. Hieraus geht ohne weiteres hervor, daß die Glykolyse, d. h. der Abbau des Zuckers unter Milchsäurebildung, keineswegs auf die weißen Blutkörperchen beschränkt, sondern eine Eigenschaft auch der roten Blutzellen ist, was mit den Ergebnissen früherer Autoren (u. a. von Noorden jr.[1]), Rona und Arnheim[2]) in Einklang steht.

[1]) von Noorden jr., diese Zeitschr. 45, 94.

[2]) l. c.

Die Wirkung des Aloins auf den Stoffwechsel.

Ein Beitrag zur Physiologie der künstlichen Gicht und des künstlichen Fiebers.

Von

M. Berrár.

(Aus dem Physiologischen Institut der kgl. ungarischen tierärztlichen Hochschule zu Budapest.)

(Eingegangen am 8. Februar 1913.)

Mit 5 Figuren im Text.

Es ist bekannt, daß das Aloin, das Alkaloid des Aloeharzes, beim Geflügel eine gichtartige Erkrankung verursacht[1]); neuerdings wurde festgestellt, daß Aloin in kleinen Dosen bei den Säugetieren Fieber hervorruft, in großen Dosen hingegen eine Erniedrigung der Körpertemperatur zustande bringt[2]).

In Anbetracht dieser letzteren Beobachtung erschien es interessant, die Wirkung des Aloins vom Standpunkte des Stoffwechsels einer eingehenderen Untersuchung zu unterwerfen.

I. Die Wirkung des Aloins auf den Stoffwechsel des Geflügels.

Bevor ich zur Besprechung der Untersuchungen schreite, die den eigentlichen Gegenstand der vorliegenden Arbeit bilden, möchte ich noch in Kürze eine ältere Versuchsreihe erwähnen. Vor Jahren (1905 bis 1906) habe ich mit dem Herrn Dr. Kolomann Zsupán die Wirkung des Aloins auf das Geflügel untersucht. Jene Versuche wurden im pharmakologischen Institute der tierärztlichen Hochschule unter der Leitung des

---

[1]) J. Kóssa, Künstliche Erzeugung der Gicht durch Gifte. Arch. intern. de Pharmakodyn. **5**, Heft 1/2, 1898.

[2]) Magyary-Kóssa, Az aloë és antrachinonszármazékok hatása a test hőmérsékletére (Ungarisch). Orvosi Hetilap **54**, Heft 4, 1910.

Herrn Prof. Dr. **Julius v. Kóssa** ausgeführt, der die Resultate derzeit ausführlich beschrieb[1]).

Als Versuchstiere haben wir damals Hähne gewählt, der Harn wurde von dem Kote mittels **Anus praeternaturalis** getrennt aufgefangen und das größte Gewicht wurde auf die Untersuchung der Harnsäure- und Stickstoffausscheidung gelegt. Die Harnsäure bestimmten wir nach **Kóssa**[2]), den harnsäurefreien Stickstoff nach **Kjeldahl**. Die Einzelheiten der Methodik und der Ergebnisse betreffend weise ich auf die Publikationen des Herrn Prof. v. **Kóssa** hin, ich will nur erwähnen, daß die Tiere während den Versuchen Mais und Wasser ad libitum bekamen, und daß das Aloin täglich, in ein wenig warmen Wasser gelöst, in die Brustmuskeln gespritzt wurde, und zwar in zwei dreitäglich steigenden Mengen von 0,05 bis 0,15 g.

In dem Urin normaler Hähne haben wir täglich pro Kilogramm des Körpergewichtes eine Harnsäuremenge von 0,7 bis 1,5 g gefunden. Nach Aloininjektionen stieg die Harnsäureausfuhr und die Stickstoffausscheidung in die Höhe, nach Einstellung der Injektionen sanken beide Werte auf das Normale. Auf eine neuerliche Injektion stieg die Harnsäureausscheidung neuerdings beträchtlich.

Nachstehende Tabelle zeigt die Resultate der mit dem vierten Tiere angestellten Versuche.

Tabelle I.

4. Hahn. Operiert am 9. Februar 1905.

Periode	Datum	Aloin g	Harnsäure täglich g	Harnsäure-N g	Harnsäurefreier N g	Gesamt-N g	Verhältnis d. Gesamt-N z. Harnsäure-N	Zunahme der Harnsäure %	Zunahme des harnsäurefreien N %	Bemerkung
1.	14.–18. Febr.	—	2,20	0,733	0,154	0,887	**1,21**	—	—	
2.	19.–20. „	0,08	2,32	0,774	0,263	1,037	**1,33**	5	71	
3.	21.–22. „	0,08–0,12	2,91	0,970	0,276	1,246	**1,28**	32	79	
4.	23.–24. „	0,16–0,20	3,50	1,167	0,288	1,455	**1,24**	59	87	
5.	25.–26. „	0,20	**4,59**	**1,563**	**0,309**	1,872	**1,20**	108	100	
6.	27.–28. „	—	3,14	1,057	0,218	1,275	**1,27**	43	41	
7.	1.– 2. März	—	2,46	0,820	0,191	1,011	**1,23**	12	24	
8.	3.– 4. „	—	2,29	0,763	0,207	0,970	**1,27**	4	34	
9.	5.– 6. „	—	—	—	0,154	—	—	—	0	Am 10. III. †

In dem oben angeführten Versuche wurde eine Steigerung der Harnsäureausfuhr um 108 %, jene der Stickstoffausscheidung um 100 % beobachtet.

1) J. **Kóssa**, Über die Natur der toxischen Gicht. Bonn 1908.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 1, 1908.

Das Verhältnis zwischen dem Harnsäure- und Gesamtstickstoff blieb während der ganzen Zeit annähernd konstant. Die ausführliche Beschreibung der anderen Versuchsreihen ist in der Mitteilung von v. Kóssa zu finden; im ganzen stellten wir fünf solche Versuche an. Die Lebensdauer unserer Versuchstiere schwankte zwischen 14 bis 41 Tagen, die Steigerung der Harnsäureausscheidung zwischen 66 bis 216 %.

Aus diesen Versuchen konnten wir folgende Schlußfolgerung ziehen:

Da das Aloin nicht nur speziell die Harnsäureproduktion, sondern die ganze Stickstoffausfuhr erhöht, muß es einen gesteigerten Umsatz der Eiweißkörper verursachen.

In anderen Versuchen bestimmten wir den Harnsäuregehalt des Blutes von drei gesunden und von vier mit Aloin behandelten Tauben. Wenn die Tiere keine oder nur eine einmalige Injektion erhielten, so gab, nach der Isolierung der Harnsäure mittels der Methode von Hoppe-Seyler[1]), der so gewonnene Stoff die Murexidreaktion nicht. Nach 9 tägiger Behandlung konnte ich in einem Blute Harnsäure nachweisen, während bei einer anderen, auf gleiche Weise behandelten Taube das Resultat negativ war. Bei der Sektion fanden wir bei dem ersten Tiere, bei dem die Murexidprobe im Blute positiv war, dicke Uratablagerungen an den serösen Häuten, während bei dem zweiten solche nicht vorhanden waren.

Bei der Sektion der Hähne waren Uratablagerungen nur in 2 Fällen nachweisbar, und wir konnten zwischen dem Auftreten der Ablagerungen und den beobachteten Stoffwechselstörungen keinen Zusammenhang finden.

In einem Falle z. B., bei dem die Harnsäureausscheidung um 216 % stieg, waren nach 42 tägigem Versuch keine Ablagerungen, in einem anderen dagegen, bei dem die Steigerung nur 60 % betrug, waren solche schon nach 6 Tagen deutlich bemerkbar.

Diese Beobachtungen und die Ergebnisse der Blutuntersuchungen zeigen, daß bei der Aloingicht eine auffallende

[1]) Hoppe-Seyler, Handb. d. physiol. u. pathol.-chem. Analyse.

Stoffwechselstörung vorhanden ist; der Eiweißabbau kann um das 2 bis 3fache steigen, aber die durch Aloin hervorgerufene Steigerung des Stoffwechsels verursacht nicht immer das Auftreten von Uratablagerungen, ja sogar nicht einmal eine gesetzmäßige Anhäufung der Harnsäure im Blute. Die Nieren können das Doppelte und das Dreifache der normalen Harnsäuremenge ausscheiden, und so kann von einer Uratstauung infolge der Mehrproduktion von Harnsäure nicht die Rede sein. Dieselbe kann nur infolge einer schweren Erkrankung der Nieren auftreten. Nach unseren bei der Sektion der Versuchstiere gemachten, wie auch nach Kóssas Beobachtungen kommt eine schwere Nierenerkrankung nach Aloinbehandlung sehr oft zustande.

So kann bei der durch Aloin verursachten artifiziellen Gicht das von Kóssa beobachtete Zustandekommen von Uratablagerungen nur entweder durch eine sehr ausgesprochene Insuffizienz der Nieren (hervorgerufen durch entzündliche Prozesse) gedeutet werden, oder wir können uns vor der Annahme nicht verschließen, daß bei relativ gut funktionierenden Nieren örtliche Veränderungen in gewissen Organen auftreten, die zur Ausscheidung von Uraten in den Geweben wenn auch nicht gerade führen, aber doch wesentlich dazu beitragen. Welche von den zwei Möglichkeiten die richtige ist, konnten wir in unseren Versuchen nicht entscheiden.

II. Die Wirkung des Aloins auf den Stoffwechsel der Säugetiere.

Durch die Versuche von v. Magyary-Kóssa[1]) wissen wir, daß das Aloin in kleinen Dosen, subcutan eingespritzt, Fieber verursacht. Von ähnlicher Wirkung ist auch das Aloeharz, sowie auch verschiedene Abkömmlinge des Antrachinons. Wegen dieser Wirkung erschien das Aloin nicht nur zum Studium der Aloinwirkung, sondern auch zu dem des Fieberstoffwechsels geeignet.

Die diesbezüglichen Versuche habe ich im physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule ausgeführt.

---

[1]) Magyary-Kóssa, l. c.

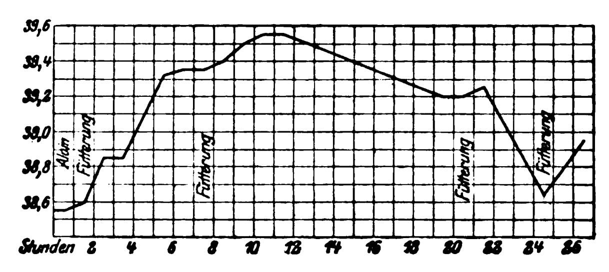
Die fieberverursachende Wirkung des Aloins bei Hunden.

Da sich die Angaben in der zitierten Arbeit von **Magyary-Kóssa** mit Ausnahme eines, bei einem Pferde angestellten, Versuches alle auf Kaninchen, also auf Pflanzenfresser, beziehen, wollte ich erst entscheiden, ob und in welchen Dosen das Aloin bei Hunden eine ähnliche Wirkung ausübt.

Hunden habe ich in ein wenig warmen Wasser gelöstes Aloin subcutan injiziert und die Temperatur im Mastdarm stündlich gemessen. Die Tiere waren während des Fiebers in der Regel niedergeschlagen und litten am Versuchstage oder am folgenden Tage an einem leichten Durchfall.

1. Hund. Ungefähr 8 Jahre alte Hündin, 19 kg, Temperatur vor dem Versuche 38,5°. Bekam pro Kilogramm Körpergewicht **5,3** cg Aloin und erhielt das übliche Futter (gekochtes Fleisch und Gemüse). Die Temperatur erreichte ihren Höhepunkt in der 11. Stunde (39,5°), nachher sank dieselbe und wurde in der 25. Stunde wieder normal. Die maximale Temperaturerhöhung war **1°**. An der Kurve sind die mit der Futteraufnahme zusammenhängenden Steigerungen gut sichtbar (Tabelle II).

Tabelle II.



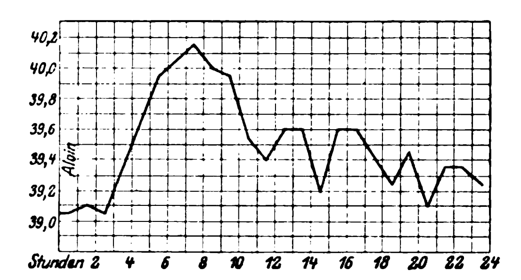
2. Hund. Ungefähr 1 Jahr alte Hündin, 11 kg, Temperatur 39°; abends vor dem Versuchstage wurde sie gefüttert, während des Versuches bekam sie weder Futter noch Wasser. Injiziert wurden pro Kilogramm Körpergewicht **9** cg Aloin. Maximum der Temperatur war in der 11. Stunde 41,5°, die Steigerung betrug also 1,5°.

3. Hund. 2 Jahre alte Hündin, 11 kg, Temperatur 39°; bekam pro Kilogramm Körpergewicht **9** cg Aloin; Futter erhielt sie am Versuchstage 4 Stunden vor der Injektion. Maximale Temperatur in der 8. Stunde 40,1°, Steigerung 1,1° (Tabelle III).

4. Hund. 3 Jahre alte Hündin, $5\frac{1}{2}$ kg, Temperatur 38,5°; erhielt **10** cg Aloin pro Kilogramm Körpergewicht; am Versuchstage wurde sie nicht gefüttert. Maximale Temperatur in der 7. Stunde 40,25°, Steigerung **1,75°**.

5. **Hund.** 1 Jahr alte Hündin, 11 kg, Temperatur 39,2°; erhielt 10 cg Aloin pro Kilogramm Körpergewicht. Maximale Temperatur in der 8. Stunde 40,7°, Steigerung 1,5°.

Tabelle III.



Das Aloin ruft also bei Hunden subcutan injiziert Fieber hervor, und zwar ist die Steigerung der Temperatur schon nach der Injektion von 5 cg mehr als 1°, nach Injektion von 10 cg ist dieselbe beiläufig 1,5°. Das Maximum der Temperaturerhöhung ist in der 7. bis 10. Stunde bemerkbar; nach Anwendung von größeren Aloingaben ist die Temperatursteigerung nicht nur größer, sondern dieselbe erreicht auch ihr Maximum früher, als nach der Injektion von kleineren Dosen.

Aus den Versuchen des Herrn Prof. v. Magyary-Kóssa erhellt, daß die maximale Temperaturerhöhung beim Kaninchen nach Injektion von 15 cg Aloin pro Kilogramm Körpergewicht eintritt; es ist also wahrscheinlich, daß bei meinen Versuchen das erreichbar höchste Fieber nicht erzielt wurde; teils fand ich aber dies für das Studium der Stoffwechselvorgänge nicht nötig, teils hielt mich von der Anwendung größerer Aloinmengen die schädliche Wirkung des Aloins auf die Nieren zurück.

Unsere Kenntnisse über den Stoffwechsel im aseptischen Fieber.

Die Fieberarten kann man in zwei Gruppen teilen. In die erste Gruppe gehören jene Fälle, bei denen die Temperaturerhöhung die primäre, — in die andere, bei denen sie nur die sekundäre Erscheinung bildet und meistens durch Infektion verursacht ist. Bei den infektiösen Fiebern sind die Erscheinungen dadurch kompliziert, daß die das Fieber hervorrufenden Mikroorganismen und deren Toxine in der Regel die Funktion verschiedener Organe mehr oder weniger stören. Infolgedessen

sind jene Stoffwechselstörungen, die wir bei solchem Fieber beobachten können, nicht alle infolge der Steigerung der Körpertemperatur entstanden, sondern zu diesen gesellen sich auch noch Störungen, die durch die von der Temperaturerhöhung selbst unabhängigen Veränderungen der Organe hervorgerufen werden. Eben wegen dieser beim infektiösen Fieber auftretenden Komplikationen sind besonders die Fieber der ersten Gruppe, nämlich die aseptischen Fieber, zur Untersuchung geeignet.

Aseptisches Fieber resp. die Steigerung der Körpertemperatur ist auf verschiedenen Wegen erreichbar, nämlich durch warme Bäder, durch die Reizung der Corpora striata; Fieber kann auftreten nach Blutergüssen, bei dem Zerfall von roten Blutkörperchen im Organismus, bei subcutanen Knochenbrüchen und endlich nach Einverleibung von gewissen chemischen Substanzen.

Die Wirkung der warmen Bäder. Rubner[1]) fand in einem Bade von 44° eine Zunahme des Atmungsvolums um 18,8%, die der Kohlensäureproduktion um 32,1% und des Sauerstoffverbrauchs um 17,3%; die Harnstoffausscheidung war auch bedeutend gesteigert.

Ein sich im Stickstoffgleichgewicht befindender Mann, dessen Temperatur nach einem 1 Stunde lang dauernden 40,5 bis 41,5grädigen Bade auf 39,7° stieg, verlor nach Schleich[2]) am Tage des Versuches um 18,2 g = 37% Stickstoff mehr, als gewöhnlich. Nach den Untersuchungen von Linser und Schmied[3]) hat das warme Bad nur dann diese Wir kung, wenn dabei die Körpertemperatur über 39° steigt; wenn sie unter 39° bleibt, nimmt der Eiweißabbau nicht zu.

In den Versuchen von F. Voit[4]) wurde die Körpertemperatur hungernder Hunde 12 Stunden lang auf 40 bis 41° erhöht; die Stickstoffausscheidung war um 37% größer als normalerweise; wenn aber die Einwirkung der Wärme nur 3 Stunden dauerte, war keine Steigerung wahrnehmbar. Bei mit Fleisch und Fett gefütterten Tieren war die Zunahme des Stickstoffausfuhrs nur 4%, wenn sie aber außerdem noch 30 bis 40 g Rohrzucker erhielten, so war die hohe Temperatur auf die Stickstoffausscheidung von keiner Wirkung.

Diese Versuche sprechen dafür, daß bei der einfacheu Hyperthermie in erster Reihe die Verbrennung der Kohlenhydrate zunimmt; nur erst dann, wenn der Kohlenhydratvorrat der Gewebe schon größtenteils verbraucht ist, beginnt der gesteigerte Abbau der Fette und nur am Ende jener der Eiweißstoffe.

---

[1]) Zit. Lusk, Ernährung u. Stoffw., S. 284. Wiesbaden 1910.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 4, 90, 1875.

[3]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. 79, 514, 1904.

[4]) Sitzungsber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. 1895, H. 2, S. 120.

Eine Reizung der Corpora striata durch die „Piqûre" zieht gleichfalls eine Zunahme des Eiweißabbaues und der Kohlensäureproduktion, sowie auch ein Steigen der Körpertemperatur nach sich, selbst bei curarisierten Tieren. Dagegen ist der Wärmestich unwirksam, wenn vorher die Leber vom Glykogen befreit wurde; in diesem Falle steigt weder die Temperatur, noch die Stickstoffausscheidung (Hirsch, Müller und Rolly[1]), Rolly[2]).

Kochsalzlösungen subcutan und auch intravenös eingespritzt rufen Fieber hervor (Davidsohn und Friedemann[3]), Wiederoë[4]), Nothmann[5]), Bingel[6]), Heim und John[7]), die Ringersche Lösung übt eine ähnliche Wirkung aus. Den Stoffwechsel des Kochsalzfiebers betreffend fand G. Trosianz[8]), daß bei einem mit salzreicher Nahrung in Stickstoffgleichgewicht gehaltenen Hunde weder hypo- noch isotonische Kochsalzlösungen eine beträchtliche Veränderung in der Stickstoffausscheidung verursachen; auch hypertonische Lösungen rufen nur eine geringe Steigerung hervor. Hingegen nimmt die Stickstoffausfuhr selbst nach hypotonischen Lösungen zu, wenn die Tiere an kochsalzarmen Futter gehalten werden, und in noch größerem Maße im Hungerzustande. Laut den Ergebnissen der Versuche von Verzár[9]) kann der Sauerstoffverbrauch nach intravenöser Einverleibung einer 10%igen Kochsalzlösung bei curarisierten Hunden um 129% steigen; selbst eine physiologische Kochsalzlösung verursacht eine Zunahme. Tangl[10]) fand nach Injektionen konzentrierter Kochsalzlösungen bei curarisierten Hunden selbst nach der Entfernung der Nieren eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs.

Es ist zu bemerken, daß nach mehreren Forschern das Kochsalzfieber infektiösen Ursprungs sei[11]).

Mehrmals wurde Fieber auch nach der Injektion von Zuckerlösungen beobachtet (Davidsohn und Friedemann[12]), Bingel[13]), Rosenthal[14]).

Eiweißinjektionen haben auf verschiedene Weise Fieber verur-

---

[1]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. 75, 264, 1903.
[2]) ibid. 78, 250, 1903.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 46, 24, 1909.
[4]) Ibid. 47, H. 45, 1910.
[5]) Zeitschr. f. Kinderheilk. 1, 73, 1910.
[6]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 64, H. 1 bis 2, 1910.
[7]) Monatsh. f. Kinderheilk. 9, 264, 1910.
[8]) Zeitschr. f. Biol. 55, 241, 1910.
[9]) Diese Zeitschr. 34, 41, 1911.
[10]) Ibid. 34, 1, 1911.
[11]) Mc Intosh, Fildes und Dearden, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 12, 164, 1912.
[12]) Berl. klin. Wochenschr. 46, 24, 1909.
[13]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 64, H. 1 bis 2, 1910.
[14]) Jahrb. f. Kinderheilk. 70, H. 2.

sacht (Davidsohn und Friedemann[1]), Vaughan, Cunning und Wright[2]) usw.).

Bei jenem Fieber, das nach Einatmung von Quecksilberdämpfen aufgetreten war, stellten Carpenter und Benedict[3]) fest, daß die Kohlensäureproduktion, der Sauerstoffverbrauch und die Wasserdampfabgabe zugenommen haben.

Weiterhin hat man Fieber beobachtet nach den Injektionen von Collargol, Hygrol, kolloidalen elektrischen Quecksilber in die Vene (Foa und Aggrazzotti[4]), nach Einatmung von Radiumemanation (Darms[5]), sowie auch nach Injektionen von Salvarsan (Mc Intosh, Fildes und Dearden).[6])

Finkelstein[7]) hält die sogenannten alimentären Fieber, die bei Ernährungsstörungen der Säuglinge auftreten, für aseptisch.

Endlich ist es erwähnenswert, daß Burian und Schur[8]) Fieber nach intravenöser Injektion von Nucleoproteiden beobachteten; beim Affen kann 40 mg Xanthin, bei einem an Kaffee nicht gewöhnten Manne 60 g Kaffee Fieber hervorrufen. Mandel[9]) fand bei den als aseptisch betrachteten chirurgischen Fiebern die Menge der Purinbasen im Urin gesteigert, und er schreibt denselben eine große Rolle bei der Pathogenese des Fiebers zu.[10]) Derselbe hat bei Affen nach Verfütterung von Bananen und Xanthin, Ott[11]) bei Kaninchen nach Einverleibung von Guanin, Adenin und Hypoxanthin eine Temperaturzunahme beobachtet.

Wie aus dieser Zusammenstellung der Literaturangaben erhellt, wurde der Stoffwechsel im aseptischen Fieber verhältnismäßig wenig untersucht; es erschien also interessant, diesbezügliche Versuche beim Aloinfieber anzustellen. Bei diesem ist, wie schon v. Magyary-Kóssa[12]) hervorhebt, das Fieber durch einen chemischen Stoff auf aseptischem Wege hervorgerufen, die Wirkung ist also leichter zu analysieren als bei dem infektiösen Fieber; dabei kann das Tier unter den normalen näherstehenden Lebensbedingungen gehalten werden, als

---

1) Berl. klin. Wochenschr. 46, 24, 1909.
2) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 9, 458.
3) Amer. Journ. of Physiol. 24, 203, 1909.
4) Diese Zeitschr. 19, H. 1 bis 2, 1909.
5) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 10, 168, 1911.
6) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 12, 164, 1912.
7) Deutsche med. Wochenschr. 1909, H. 5.
8) Arch. f. d. ges. Physiol. 87, 239, 1901.
9) Amer. Journ. of Physiol. 10, 452, 1904.
10) Ibid. 20, 439, 1907.
11) The medical Bulletin (Medical-Chir. College), Okt. 1907.
12) Magyary-Kóssa, l. c.

dann, wenn es sich stundenlang in einem abnorm warmen Bade befindet, oder wenn wir an ihm operative Eingriffe vollziehen, wie es beim Wärmestich der Fall ist.

Aloinfieber nach Fleischfütterung.

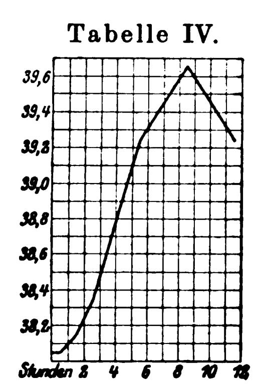
Das Versuchstier war eine ungefähr 8 Jahre alte Hündin, die 2 Wochen vor den Versuchen tracheotomisiert wurde.

Der Versuch begann nach einer Vorfütterung von 3 Tagen am 3. Januar; das Tier bekam täglich 700 g feingehacktes und für die ganze Dauer des Versuches voraus sterilisiertes Pferdefleisch. Die Fütterung geschah immer um 6 Uhr morgens, tagsüber erhielt das Tier weder Futter noch Wasser. Der Urin und der Kot wurde in den Vorversuchen 2täglich, ersterer mittels sterilem Katheter, letzterer mittels Kieselsäure abgegrenzt; in der ersten Hälfte des Fiebertages wurde der Harn 3stündlich aufgefangen.

Um die Respirationsversuche glatt ausführen zu können, haben wir das Tier — ein Vorstehhund — einer sorgfältigen Dressur unterworfen, so daß es während dem 10 bis 20 Minuten dauernden Versuch regungslos lag. Die Analyse der Luft geschah in dem Zuntz-Geppertschen Apparate, die Strömung der Luft wurde mittels Darmventilen geregelt.

Der Stickstoff wurde nach dem Verfahren von Kjeldahl, der Kohlenstoff mittels der Tanglschen Modifikation[1]) nach der Methode von Messinger-Fritsch[2]), der Harnstoff mittels der von Gumlich-Schöndorff[3]) empfohlenen Modifikation des Pflüger-Bohland-Bleibtreuschen Verfahrens, die Harnsäure mit Hilfe der Folin- und Schaefferschen Modifikation[4]) der Methode von Hopkins, die Xanthinbasen nach dem Verfahren von Salkowsky-Huppert[5]), das Chlor endlich mittels der Salkowsky-Volhartschen Methode bestimmt.

Tabelle IV.



Am Fiebertag bekam das Tier um 9 Uhr vormittags 12 cg Aloin pro Kilogramm subcutan; das Maximum der Steigerung der Körpertemperatur war 1,6° (Tabelle IV).

Die Tabelle V zeigt die Stoffwechselbilanz in 24 Stunden.

---

[1]) Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 1, I, 359, 1909.

[2]) Abderhalden, l. c.

[3]) Gumlich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 17, 10, 1893. — Schöndorff, Arch. f. d. ges. Physiol. 1, 62, 1896.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 552, 1901.

[5]) Arch. f. d. ges. Physiol. 69, 280, 1898.

Tabelle V.

Versuch	Datum	Täglich ausgeschieden im Harne: N g	Harnstoff g	Harnsäure g	Xanthin g	CO_2 g	Cl g	Im Kot N g	Gesamtmenge d. ausgeschied. N	Menge des im Futter aufgenommenen N
Normalversuch	7. Jan.	22,15	43,41	0,05	—	52,54	5,00	1,57	23,72	23,70
"	8. "	22,15	43,41	0,05	—	52,54	5,00	1,57	23,72	23,70
"	9. "	22,21	42,13	0,05	0,02	49,07	4,48	1,49	23,70	23,70
"	10. "	22,21	42,13	0,05	0,02	49,07	4,48	1,49	23,70	23,70
Aloinversuch	11. "	**23,81**	**43,79**	0,05	0,02	**60,85**	**10,22**	**1,79**	**23,58**	23,70

Aus den angeführten Daten erhellt, daß der Hund sich während des ganzen Vorversuches im Stickstoffgleichgewicht befand; an jenem Tage hingegen, an dem er Aloin erhielt, wurde das Gleichgewicht gestört: die Resorption ist schlechter geworden und die Stickstoffausscheidung hat trotzdem um ungefähr 7 % zugenommen.

Die Menge des Harnstoffes, der den größten Teil der stickstoffhaltigen Harnbestandteile bildet, hat gleichfalls zugenommen, die Menge der Harnsäure und der Xanthinbasen zeigt dagegen keine bemerkenswerte Veränderung.

Tabelle VI.

Versuch	Periode	Körpertemperatur °C	Harnanalyse 3stündlich: Harn ccm	Spez. Gew. g	Cl g	N g	Harnstoff g	Harnsäure g	Xanthin g	CO_2 g	N/C	Respiration stündlich: Atmungsluft l	CO_2 l	O_2 l	Resp. Quot.
Normalversuch	1.	38,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	162	6,56	7,76	0,84
	2.	38,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	108	6,00	6,96	0,86
	3.	38,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	152	6,29	7,48	0,84
	4.	37,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	126	5,40	6,69	0,81
	5.—8.	38,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mittelwerte			**52,7**	**1053**	**0,56**	2,78	**5,27**	0,01	0,002	**6,13**	**1,67**	**139**	6,08	7,22	**0,84**
Aloinversuch	1.	38,3	55,5	1065	0,43	2,98	—	—	—	—	—	171	6,45	8,10	0,80
	2.	**39,2**	95,2	1050	2,36	3,58	—	—	—	—	—	223	**8,04**	**9,96**	0,81
	3.	**39,6**	**98,7**	**1048**	**2,91**	**3,81**	—	—	—	—	—	284	**8,04**	**9,96**	0,81
	4.	**39,2**	76,7	1056	1,20	2,99	—	—	—	—	—	240	7,88	**10,14**	0,78
	5.—8.	38,6	292,8	1041	3,32	10,44	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mittelwerte			**77,9**	—	**1,28**	**2,98**	**5,47**	0,01	0,002	**7,61**	**1,45**	**230**	**7,80**	**9,54**	**0,80**
Differenz der Mittelwerte in %			47	—	128	7	4	—	—	20	—	40	28	32	—

Die Ausscheidung des **Kohlenstoffes** in dem Harne war ungefähr um 25 %, die des **Chlors** um mehr als 100 % größer geworden; das Verhältnis N/C sank ein wenig.

Die Respirationsversuche geschahen immer in der Mitte der 3stündlichen Perioden; aus den Zahlen erhellt, daß im Fieber die Ventilation der Lungen annähernd um 40 %, die Kohlensäureproduktion um 28 %, der Sauerstoffverbrauch um 32 % zunahm und der respiratorische Quotient um ein wenig sank.

Aus den Ergebnissen der Untersuchung der Atmungsluft und des Urins kann man die Menge der im Organismus verbrannten Stoffe annähernd berechnen[1]). Die gewonnenen Werte sind in der Tabelle VII zu finden.

Tabelle VII.

Datum	Periode	Stoffumsatz stündlich			Cal.	Körpertemperatur
		Eiweiß g	Fett g	Kohlenhydrate g		°C
11. Januar	1.	6,43	0,68	0,88	36,94	38,3
11. „	2.	7,72	0,73	1,55	45,63	39,2
11. „	3.	8,22	0,56	1,39	45,48	39,6
11. „	4.	6,44	1,70	0,83	46,49	39,2

Im Fieber nahm mit der Steigerung der Körpertemperatur gleichzeitig der Abbau der Nährstoffe zu; die Wärmeproduktion geschah am Beginne besonders auf Kosten der Kohlenhydrate und der Eiweißstoffe, später nahm auch die Verbrennung der Fette zu, was wahrscheinlich mit der Abnahme der Kohlenhydrate in den Geweben zusammenhängt.

In den einzelnen Perioden des normalen Tages stellte ich keine Analyse des Harnes an; da aber die Energieerzeugung mit der Sauerstoffabsorption proportional ist, kann man dieselbe ausrechnen:

Am normalen Tage verbrauchte das Tier stündlich 7,2, im Fieber 9,5 l Sauerstoff; am 2. Tage war der Energieumsatz pro Stunde durchschnittlich 43,6 Cal., auf jedes Liter Sauerstoff fällt also

$$43,6 : 9,5 = 4,6 \text{ Cal.}$$

[1]) Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 3, II, 1139, 1910.

Dementsprechend war die Wärmeproduktion am ersten (normalen) Tage stündlich

$$7{,}2 \cdot 4{,}6 = 33{,}1 \text{ Cal.}$$

Im Fieber wuchs die Wärmeproduktion durchschnittlich um 31%, in einzelnen Perioden war sie aber noch größer (46,5 Cal.).

Am nächsten Tage bekam das Tier wieder Aloin, wegen einer hochgradigen Appetitlosigkeit wurde aber an diesem Tage von der Fortsetzung der Versuche Abstand genommen. Abends erschienen Spuren von Eiweiß im Harne, später nahm die Albuminurie zu, und am 3. Tage gesellte sich auch Hämaturie dazu. Der Hund war fiebernd, und die Temperatur wurde erst am 10. Tage wieder normal; zur selben Zeit verschwanden auch die Symptome der Nephritis.

Die Ursache der Appetitlosigkeit ist außer der sich entwickelnden Nierenentzündung auch in der Wirkung des Aloins auf den Magen zu suchen.

Einem Hunde, der wie gewöhnlich früh gefüttert wurde, injizierte ich subcutan 2 Stunden später **11** cg Aloin pro Kilogramm. Als ich dann um Mitternacht das Tier getötet und den Magen eröffnet habe, fand ich denselben voll mit kaum verdauter Nahrung. Das Aloin kann also, subcutan injiziert, die Tätigkeit des Magens eine lange Zeit verhindern.

Ähnliches ist auch von anderen Bitterstoffen bekannt. Wenn wir z. B. Quassiin in kleiner Menge (0,001 g) subcutan injizieren und dem Tiere gleichzeitig per os Strychnin geben, so verendet dasselbe früher und nach kleineren Strychnindosen als sonst; wenn dagegen eine größere Gabe Quassiin (0,025 g) angewendet wurde, so starben die Tiere viel später, ja sie können manchmal tödliche Dosen ohne Symptome der Strychninvergiftung ertragen. Heubner und Rieder[1]) erklären dies damit, daß kleine Mengen Quassiin die Magenbewegungen anregen, größere dagegen dieselben verhindern.

Um festzustellen, ob die in meinem Versuche festgestellte Nephritis wirklich durch das Aloin verursacht und nicht vielleicht nur zufällig war, injizierte ich einem anderen Hunde an zwei nacheinander folgenden Tagen gleichfalls 12—12 cg Aloin pro Kilogramm subcutan. Das Tier reagierte an beiden Tagen mit einem Fieber von über 40°, und der Harn blieb auch hier am 1. Tage eiweißfrei; am Ende des 2. Tages erschienen schon Spuren von Eiweiß, und am 4. Tage war schon reichliches Eiweiß und auch Blut im Harne.

Infolgedessen kann es als festgestellt betrachtet werden, daß das Aloin, an zwei nacheinander folgenden Tagen in Dosen von 12 cg pro Kilogramm Körpergewicht subcutan injiziert, beim Hunde eine hämorrhagische Nierenentzündung verursacht.

---

[1]) Therap. Monatsh. **23**, Heft 6, 1909.

Es muß angenommen werden, daß infolge der durch das Aloin verursachten Verdauungsstörungen während der normalen und der fiebernden Versuche nicht gleichgroße Mengen der Nährstoffe in den Organismus gelangten; daher geben diese und ähnliche Versuche kein treues Bild von den Stoffwechselveränderungen, die infolge der stoffwechselbeeinflussenden Wirkung des Aloins entstehen können. Aus diesem Grunde wurden zwei weitere Versuche gemacht, der eine bei einem lange hungernden, der andere bei einem an gemischter Kost gehaltenen und nur am Versuchstage hungernden Hunde, wo also die von der Ungleichheit der Futteraufnahme an den Versuchstagen bedingten Fehler ausgeschlossen waren.

Aloinfieber beim hungernden Tiere.

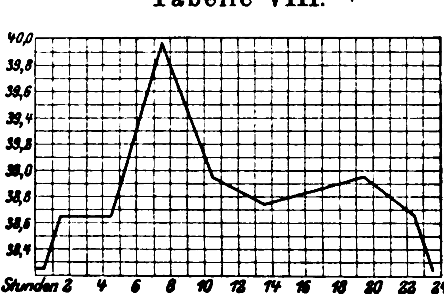
Das Versuchstier war eine 8 Jahre alte Hündin von $18^1/_2$ kg Gewicht; sie hungerte 8 Tage vor dem Beginne des Versuches, wobei ihr Körpergewicht bis auf $16^1/_2$ kg sank.

Eine Abweichung in der Einrichtung der Versuche von der oben angeführten bestand darin, daß der Harn schon am normalen Tage in 8 stündlichen Perioden aufgefangen und die Blase jedesmal mit steriler Kochsalzlösung ausgespült wurde; von Chlorbestimmungen wurde natürlich Abstand genommen. Den Versuch setzten wir auch über Nacht fort; auf diese Weise konnten wir von dem 24 stündigen Stoffwechsel im Ganzen und im Detail Kenntnis nehmen.

Am Versuchstage wurden 12 cg Aloin eingespritzt, das Maximum der Temperaturzunahme betrug 1,7°.

Die Tabelle VIII veranschaulicht den Ablauf des Fiebers.

Tabelle VIII.



Die Menge des Urins nahm auch hier zu, der Harn blieb aber sowohl am Versuchstage wie auch an den folgenden Tagen eiweißfrei.

Die Tabelle IX zeigt die Ergebnisse am normalen und am Fiebertage in den einzelnen 3 stündlichen Perioden.

Tabelle IX.

Versuch	Periode	Körpertemperatur	Harnanalyse 3 stündlich				Respiration stündlich			
			N g	Harnstoff-N g	C g	N/C	Atmungsluft l	CO_2 l	O_2 l	Resp. Quot.
Normalversuch	1.	38,2	0,65	0,60	0,57	1,14	70	2,74	3,85	0,71
	2.	38,1	0,65	0,61	0,53	1,22	82	3,07	4,28	0,72
	3.	38,1	0,66	0,60	0,56	1,18	78	3,13	4,43	0,71
	4.	38,2	0,78	0,71	0,70	1,11	86	2,75	4,09	0,67
	5.	38,1	0,64	0,58	0,58	1,10	73	2,64	3,92	0,67
	6.	38,1	0,67	0,62	0,54	1,24	70	2,65	3,85	0,69
	7.	38,2	0,60	0,48	0,52	1,17	71	2,61	3,68	0,71
	8.	38,1	0,63	0,47	0,53	1,18	74	2,78	3,83	0,73
Mittelwerte			**0,66**	**0,60**	**0,57**	1,17	**76**	**2,80**	**3,99**	**0,70**
Aloinversuch	1.	38,6	0,48	0,40	0,50	0,96	79	2,80	3,85	0,73
	2.	38,6	0,72	0,65	0,96	0,75	149	4,79	6,74	0,71
	3.	**39,9**	**1,30**	1,01	1,13	1,15	253	**6,22**	**7,61**	**0,82**
	4.	**38,9**	**1,37**	**1,18**	**1,38**	0,99	259	4,74	5,94	0,80
	5.	38,8	0,78	0,69	1,16	0,67	190	5,78	7,23	0,80
	6.	38,9	1,10	0,90	1,30	0,84	184	5,64	7,16	0,79
	7.	38,6	1,30	1,17	1,34	0,92	128	4,34	5,60	0,77
	8.	38,6	1,23	0,91	1,24	0,99	161	5,02	6,63	0,76
Mittelwerte			**1,13**	**0,86**	**1,13**	**1,00**	**175**	**4,91**	**6,34**	**0,77**
Differenz der Mittelwerte in %			71	45	99	—	120	82,5	59	—

Die Zusammensetzung des Urins war also am normalen Tage annähernd konstant; die Menge der einzelnen Bestandteile veränderte sich parallel mit dem Stickstoff. Eine ähnliche Parallelität ist auch am Alointage bemerkbar, hier ist aber die Menge der entleerten Stoffe in verschiedenen Perioden verschieden; in allen Versuchen — von dem ersten abgesehen — hat die Menge der Harnbestandteile an diesem Tage zugenommen.

Der Stickstoff war am 1. Tage in 3 Stunden 0,66 g, am Fiebertage dagegen sind Versuche, in denen die Menge desselben 1,30 bis 1,37 g, also mehr als das Doppelte, erreichte. Im 24 stündlichen Durchschnitt war die Stickstoffausscheidung um 71% gesteigert.

Ähnliches ist auch beim Harnstoff bemerkbar, dessen Menge von 0,60 g in einzelnen Versuchen bis auf 1,17 bis 1,18 g, im Durchschnitt bis auf 0,86 g stieg; der Kohlenstoffgehalt des

Urins stieg von 0,57 bis auf 1,34 bis 1,38 g, im Durchschnitt um 99 %. Das Verhältnis N/C sank von 1,17 bis auf 1,00. Die Harnsäuremenge betrug am 1. Tage 0,07 g, am 2. Tage 0,13 g.

Die Ergebnisse der Respirationsversuche zeigen ein ähnliches Verhalten. Die Ventilation der Lungen war am Fiebertage um 120 % größer geworden. Die Kohlensäureabgabe stieg von 2,8 l durchschnittlich bis auf 4,9 l, also um 82,5 %, der Sauerstoffverbrauch von 4 l bis auf 6,3 l, also um 59 %, in einzelnen Versuchen erreichte derselbe beinahe das Doppelte des normalen Wertes. Der Respirationsquotient stieg von 0,70 auf 0,77, die größten Werte wurden am Höhepunkte des Fiebers beobachtet.

Alle diese Angaben zeigen, daß das Aloin eine starke Zunahme des Stoffwechsels verursachte. Aus den Respirationsversuchen kann man berechnen, daß die Wärmeproduktion am normalen Tage stündlich annähernd 15,7 Cal. war, und zwar auf Kosten des Eiweißes (1,42 g) und Fettes. Am Fiebertage war dagegen der Energieverlust stündlich 25,52 Cal., wobei 2,46 g Eiweiß, 1,61 g Fett und 0,88 g Kohlenhydrat verbrannt wurden.

Im Fieber nahm die Wärmeproduktion durchschnittlich um 62 % zu, in einzelnen Perioden erreichte dieselbe beinahe den doppelten Wert des Normalen; der größte Teil der Energieproduktion fällt auf die Eiweißstoffe und die Fette.

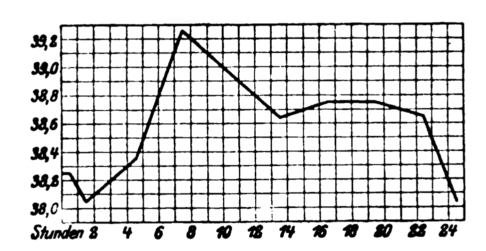
Das Ergebnis des Versuches ist sehr auffallend, wenn wir in Betracht ziehen, daß ein über 39° steigendes Fieber nur in einer Periode vorhanden war; in den anderen Perioden war die Steigung der Temperatur nur ungefähr 0,5° über das Normale. In den erwähnten Versuchen von Voit war nach warmen Bädern nach 3 bis 4 Stunden keine Veränderung in der Stickstoffausscheidung bemerkbar, und selbst nach einem 12 Stunden lang dauernden Bade von 40 bis 41° war die Zunahme der Stickstoffausscheidung beim hungernden Tiere nur 37 %.

Aloinfieber nach gemischter Kost.

Das Versuchstier war eine 8 Jahre alte Hündin von 18 kg. Sie wurde mit 400 g gekochtem Pferdefleisch und der gleichen Menge gekochter Kartoffeln gefüttert; das Futter bekam der Hund immer früh und abends in zwei gleichgroßen Portionen. In den letzten 4 Tagen der

Versuche wurde der Harn gesammelt und analysiert. Am Versuchstage erhielt der Hund kein Futter, und der Urin wurde 3stündlich aufgefangen; in der Mitte jedes einzelnen Zyklus wurde ein 16 bis 20 Minuten dauernder Respirationsversuch ausgeführt. An den nächsten Tagen bekam das Tier dasselbe Futter wie vor dem Tage des Respirationsversuches, bis die Stickstoffausscheidung ungefähr denselben Wert erreichte wie vor dem 1. Versuchstage. Dann kam wieder ein Hungertag, zugleich wurden auch 12 cg Aloin pro Kilogramm Körpergewicht unter die Haut gespritzt und der Harn und die Atmungsluft auf gleiche Weise analysiert (Tabelle X).

Tabelle X.



Auf diese Weise konnten wir den Stoffwechsel an zwei Tagen untersuchen, die — von der Verabreichung des Aloins abgesehen — sonst unter gleichen Verhältnissen verliefen.

Außer den in den vorigen Versuchen bestimmten Stoffen bestimmte ich diesmal auch noch das Ammoniak; zu diesem Zwecke zog ich die Schittenhelmsche[1]) Modifikation der Methode von Krüger-Reich zu Hilfe. Auf eine Nierenentzündung hinweisende Symptome wurden auch in diesem Falle nicht beobachtet.

Die Ergebnisse der täglichen Harnuntersuchungen sind in der Tabelle XI angeführt.

Gemäß den Daten der Tabelle stieg die anfangs vor beiden Versuchen niedrige Stickstoffausscheidung in beiden Fällen von 13,5 g auf ungefähr 17 g; an den letzten zwei Tagen vor den Versuchen war die täglich ausgeschiedene Stickstoffmenge in beiden Fällen — von den täglichen Schwankungen abgesehen — gleich groß. An den Versuchstagen sank die Stickstoffausscheidung infolge des Hungerns bedeutend.

Die Tabelle XII zeigt die Ergebnisse der an den Tagen der Respirationsversuche ausgeführten Analysen in 3stündlichen Perioden.

---

[1]) Abderhalden, Handb. 3, II, 767.

Tabelle XI.

Datum	Futter	Körpergewicht kg	N g	Harnstoff g	Harnsäure g	Xanthin g	NH_3 g	C g	N/C
24. Aug.	400 g Fleisch, 400 g Kartoffeln	18,0	13,85	25,45	0,02	0,018	0,27	8,86	1,56
25. „	do.	17,5	15,88	30,23	0,04	0,017	0,73	10,30	1,54
26. „	do.	17,4	16,60	31,60	0,04	0,018	0,71	11,23	1,48
27. „	do.	17,2	17,53	35,34	0,05	0,018	0,80	11,17	1,57
28. Aug.	Hunger	**17,3**	**7,16**	**13,66**	**0,02**	**0,007**	**0,46**	**5,09**	**1,41**
29. Aug.	400 g Fleisch, 400 g Kartoffeln	17,1	13,28	25,38	0,04	0,014	0,53	10,76	1,23
30. „	do.	17,3	14,91	28,87	0,04	0,011	0,79	10,62	1,40
31. „	do.	17,5	17,56	33,64	0,04	0,018	0,92	11,69	1,50
1. Sept.	do.	17,6	16,71	33,54	0,04	0,017	0,68	11,40	1,46
2. Sept.	Hunger, Aloin	**17,4**	**11,99**	**27,73**	**0,03**	**0,008**	**0,48**	**10,50**	**1,14**

Tabelle XII.

Versuch	Periode	Körpertemperatur °C	Harnanalyse 3stündlich N g	Harnstoff-N g	C g	N/C	Respiration stündlich Atmungsluft l	CO_2 l	O_2 l	Resp. Quot.	Stoffabbau stündlich Eiweiß g	Fett g	Kohlenhydrate g	Cal.
Normalversuch	1.	38,1	1,23	1,07	0,81	1,51	120	4,07	4,77	0,85	2,6	0,31	2,12	19,4
	2.	38,1	0,92	0,80	0,64	1,43	120	4,06	4,90	0,83	2,0	0,76	1,73	20,0
	3.	38,2	0,89	0,77	0,62	1,42	101	3,70	4,49	0,82	1,9	0,69	1,46	18,2
	4.	38,2	0,95	0,81	0,61	1,54	113	3,95	5,10	0,78	2,0	1,28	0,85	20,5
	5.	38,1	0,76	0,62	0,61	1,23	114	3,79	4,75	0,80	1,6	1,02	1,20	19,2
	6.	38,1	0,76	0,67	0,67	1,14	93	3,46	4,49	0,77	1,6	1,14	0,60	18,0
	7.	38,1	0,94	0,85	0,68	1,39	101	3,87	5,08	0,76	2,0	1,39	0,44	20,4
	8.	38,1	0,71	0,60	0,53	1,33	123	4,08	5,23	0,78	1,5	1,45	1,00	21,3
Mittelwerte			**0,89**	**0,78**	**0,64**	**1,41**	**111**	**3,87**	**4,85**	**0,80**	**1,9**	**1,0**	**1,2**	**19,6**
Aloinversuch	1.	37,9	0,82	0,57	0,92	0,90	131	4,17	5,33	0,78	1,8	1,31	1,10	22,4
	2.	38,2	0,87	0,76	0,92	0,94	149	5,14	5,99	0,86	1,9	0,79	3,14	24,8
	3.	**39,2**	1,43	1,17	1,16	1,23	203	**7,15**	**7,82**	**0,91**	**3,0**	0,21	**5,67**	**33,1**
	4.	**38,9**	1,69	1,47	1,25	1,35	174	6,19	6,73	**0,92**	**3,6**	0,00	4,80	28,1
	5.	**38,6**	1,48	1,33	1,31	1,13	179	5,20	6,25	0,83	3,2	0,69	2,20	25,5
	6.	**38,7**	**1,91**	**1,72**	**1,58**	1,27	177	5,90	7,02	0,84	4,1	0,66	2,60	28,4
	7.	**38,7**	1,85	1,57	1,44	1,28	154	5,54	6,59	0,84	4,0	0,75	2,30	26,6
	8.	**38,6**	**1,95**	**1,68**	**1,92**	1,01	178	**6,00**	7,21	0,83	4,2	0,70	2,35	29,2
Mittelwerte			**1,49**	**1,26**	**1,31**	**1,14**	**168**	**5,66**	**6,62**	**0,80**	**3,2**	**0,64**	**3,0**	**27,3**
Differenz der Mittelwerte in %			66	37	106	—	51	44	36,5	66	66	— 36	150	39

Aus der Tabelle erhellt, daß die Ausscheidung der Harnbestandteile auch in diesem Versuche im ganzen mit der Stickstoffausscheidung parallel verlief.

Am normalen Tage schied das Tier 3stündlich 0,89 g Stickstoff aus, am Fiebertage ist der Wert durchschnittlich 1,49 g, d. h. um 66 % größer, ja in einzelnen Versuchen erreichte derselbe sogar 1,9 g, also das Doppelte des normalen. Der größte Teil des Stickstoffes war auch jetzt in Form von Harnstoff anwesend, dessen Menge von 0,78 g auf 1,72 g stieg. Harnsäure, Xanthin und Ammoniak zeigen nur eine geringe Vermehrung.

Kohlenstoff war im Harne am normalen Tage 3stündlich 0,64 g, am Fiebertage durchschnittlich 1,31 g, in einzelnen Versuchen erreichte derselbe sogar 7 g, also das 3fache des Normalen. Der Quotient N/C sank von 1,41 auf 1,14.

Aus den Respirationsversuchen ist ersichtlich, daß die Ventilation der Lungen um 51 %, die Kohlensäureproduktion von 3,87 auf 7,15 l, im Durchschnitt um 44 %, die Sauerstoffabsorption von 4,85 auf 7,82 l, durchschnittlich um 36,5 % zunahm. Der respiratorische Quotient stieg von 0,80 auf 0,85 und ist am Höhepunkt des Fiebers der größte.

Die Energieproduktion nahm durchschnittlich um 39 % zu, und zwar in erster Reihe auf Kosten der Eiweißstoffe und Kohlenhydrate.

Zusammenfassung.

Aus den angeführten Versuchen erhellt, daß das Aloin beim Hunde, in einer Menge von 10 bis 12 cg pro Kilogramm subcutan angewendet, eine erhebliche Steigerung des Stoffwechsels und gleichzeitig ein in 24 Stunden ablaufendes Fieber verursacht.

Beim Aloinfieber ließen die Stoffwechseluntersuchungen auch schon im ersten Versuche eine deutliche (32 %) Steigerung des Energieumsatzes erkennen, die Stickstoffausscheidung nahm dagegen nur um ein wenig (7 %) zu. Die Ursache davon fand ich in der die Tätigkeit des Magens herabsetzenden Wirkung des Aloins. Diese Eigenschaft des Aloins erklärt auch das Sinken des respiratorischen Quotienten in diesem Versuche.

In den anderen zwei Versuchen, in denen das Tier an den Versuchstagen hungerte, konnte ich gleichzeitig mit der starken Zunahme des Energieumsatzes (62%, 39% in 24stündlichem Durchschnitt) auch eine starke Steigerung der Stickstoffausscheidung (71%, 66% im Durchschnitt) beobachten; in diesen Versuchen stieg der respiratorische Quotient.

Im Fieber nahm auch die Ventilation der Lungen, die Kohlensäureproduktion (82,5%, 44% in 24 Stunden), der Sauerstoffverbrauch (59%, 36,5%), sowie auch der Kohlenstoffgehalt des Harnes (99%, 100%) bedeutend zu.

Von den stickstoffhaltigen Bestandteilen des Harnes zeigte der Harnstoff eine starke Zunahme, die Harnsäure, die Xanthinbasen und das Ammoniak dagegen nur geringgradige Veränderungen.

Am Höhepunkt des Fiebers erreichte die Steigerung des Stoffwechsels ungefähr das Doppelte des Normalen.

Die Quellen der Energieproduktion bildeten in jedem Versuche diejenigen Stoffe, die dem Organismus infolge der Ernährungsverhältnisse zur Verfügung standen. Während beim lange hungernden Tiere neben dem Eiweiß besonders das Fett zur Energieproduktion beitrug, nahm in dem dritten Versuche, in dem das Tier vor dem Versuche an kohlenhydratreicher Nahrung gehalten wurde, die Verbrennung der Kohlenhydrate um 150% zu, ja erreichte sogar in einzelnen Versuchen das 5fache des im Normalversuch beobachteten Wertes, der Fettabbau blieb hingegen gleichzeitig zurück.

Ein bestimmtes Verhältnis in dem Abbau der verschiedenen Substanzen ist nicht erkennbar. Im ersten Versuche trugen die Eiweißstoffe um 75%, im zweiten um 35%, im dritten um 40% zur Deckung des Energiebedarfes bei.

Das Aloin übt also auf den Stoffwechsel eine charakteristische Wirkung aus, sowohl beim Geflügel wie auch bei den Säugetieren; die Wirkung besteht in erster Reihe in der starken Anregung des Eiweißumsatzes. Infolge des gesteigerten Abbaues der Eiweißstoffe im Organismus entsteht beim Geflügel Harnsäure, bei den Säugetieren Harnstoff in abnorm großer Menge. Die täglich entstehende Harnsäure kann beim

Geflügel bei chronischer Aloinvergiftung das 3fache der normalen Menge erreichen; infolge einer relativen oder pathologischen Insuffizienz der Nieren können sich harnsaure Salze im Blute anhäufen, die eventuell an gewissen Stellen des Körpers ausgeschieden werden und eine gichtartige Erkrankung hervorrufen. Bei den Haussäugetieren ist die Harnsäure in dem Urin selbst nach Aloinbehandlung nur in geringem Quantum vorhanden, und so entwickelt sich bei diesen keine Gicht.

Die die akute Aloinvergiftung der Säugetiere betreffenden Versuche zeigen, daß bei der durch Aloin hervorgerufenen Stoffwechselstörung nicht nur der Eiweißabbau, sondern auch der Abbau der Kohlenhydrate und Fette zunimmt.

In Anbetracht der starken Steigerung des Stoffwechsels, insbesondere des Eiweißzerfalls, steht das Aloinfieber zum infektiösen Fieber näher als zur einfachen Hyperthermie.

Die Einwirkung von Hydroxylionen auf Kolloidtone.

Von

Paul Rohland.

(Eingegangen am 9. Februar 1913.)

Außer der Adsorption von Farbstoffen, Kolloidstoffen, bestimmten Ionenarten, ungesättigten Kohlenwasserstoffen und Gerüchen[1]) kommt den Kolloidtonen noch die eine charakteristische Eigenschaft zu, in ganz eigentümlicher Weise auf Hydroxylionen zu reagieren.

Dieses Phänomen kann man sehr bequem an folgendem kleinen Apparat betrachten: einen größeren Trichter verbindet man durch Schlauch nebst Klemmschraube mit einem längeren, ziemlich weitem Glasrohre, das am unteren Ende mit einem Stück Gummischlauch nebst Klemmschraube verbunden ist.

In den Trichter füllt man verdünnte Natronlauge und gießt eine Tonemulsion hinzu; man läßt diese etwa 2 Stunden absitzen, und läßt dann durch Öffnen der Klemmschrauben etwas ausfließen; dann beobachtet man, daß große Tonflocken langsam durch die Glasröhre heruntersinken.

Durch Einwirkung der Hydroxylionen hat eine kolloidchemische Konstitutionsänderung der Tonpartikelchen stattgefunden, die mit einer Volumenvergrößerung verbunden ist.

Die vorher kompakten Tonteilchen haben, wie man unter dem Mikroskop deutlich sehen kann, eine farnkrautartige Ausgestaltung erfahren, die allerdings nach längerer Zeit wieder verschwindet.

Es ist möglich, daß ein elektrochemischer Vorgang dabei eine Rolle spielt. Die Tonteilchen wandern in der Rich-

[1]) Vgl. P. Rohland, Über die Adsorption durch Tone. Diese Zeitschr. 1908, 12.

tung des negativen Stromes, treffen hier mit den gleichfalls negativ geladenen Hydroxylionen zusammen, so entsteht, wie man gleichfalls am besten in einem Standzylinder beobachten kann, eine Bewegung in der Flüssigkeit, die bei Beginn der Einwirkung die Tonteilchen von unten nach oben und in umgekehrter Richtung führt.

Es erfolgt eine elektrostatische Abstoßung zwischen Tonteilchen und Hydroxylionen, die erstere hin und her treibt. Durch die wechselnde Berührung mit den Hydroxylionen erfahren die Tonteilchen jene kolloidchemische Konstitutionsänderung, die in der Ausflockung zum Ausdruck kommt.

Durch die Berührung mit der alkalischen Flüssigkeit, insbesondere mit den Hydroxylionen, werden die Kolloidstoffe, die im lufttrockenen Zustande in dem Ton im latenten Stadium vorhanden waren, in besonders deutlicher Weise ausgebildet und sehr wahrscheinlich zur Koagulation gebracht.

Da die Tonteilchen nach längerer Zeit wieder in den alten kompakten Zustand zurückkehren, so scheint ein reversibler Koagulationsvorgang vorzuliegen.

Da die Konzentration der Hydroxylionen während dieses Vorganges sich nicht ändert, so scheint eine chemische Einwirkung ausgeschlossen zu sein.

Bei diesem Vorgange kommen nun noch zwei Faktoren in Betracht; einmal die Konzentration der Hydroxylionen und die Konstitution des Tones.

Salze der verschiedensten Art sind ganz unwirksam; nur diejenigen, die infolge Hydrolyse Hydroxylionen enthalten, üben eine sehr schwache Wirkung aus, wie Soda, Pottasche, Borax; stärker wirken, ihrem Dissoziationsgrad entsprechend, die Hydroxyde, Bariumhydroxyd, Strontiumhydroxyd und Calciumhydroxyd in der hier angegebenen Reihenfolge; am stärksten beeinflussen die Ausbildung von Kolloidkörpern Natronhydroxyd und Kalihydroxyd, während Ammoniumhydroxyd infolge seiner geringeren Konzentration an Hydroxylionen nur eine schwache Wirkung ausübt.

Ferner besteht eine Korrelation zwischen der Konzentration der Hydroxylionen und der Konstitution des angewendeten Tones. Zunächst ist zu beobachten, daß bei sehr geringer Konzentration der Hydroxylionen ihr Einfluß auf die Aus-

bildung der Kolloidkörper bei ein und demselben Ton gleich Null ist, mit wachsender Konzentration der Hydroxylionen größer wird, um bei einer bestimmten Konzentration das Maximum zu erreichen, und alsdann von gleicher Größe bleibt.

Andererseits ist für jeden Kolloidton eine ganz bestimmte Konzentration der Hydroxylionen notwendig, um die Ausbildung der Kolloidstoffe zu erreichen; gewisse „fette" Tone reagieren auf die Hydroxylionen in dieser Hinsicht fast gar nicht, während andere, z. B. der Ton A, der der chemischen Analyse nach die folgende Zusammensetzung hat, schon bei sehr geringer Konzentration der Hydroxylionen dieses Verhalten zeigen.

Ton A.

Wasser	2,92 %	2,77 %
Organische Stoffe	5,34 „	5,88 „
SiO_2	61,30 „	57,45 „
TiO_2	1,01 „	1,05 „
SO_3	1,79 „	1,53 „
CO_2	0,74 „	0,44 „
P_2O_5	0,06 „	—
Al_2O_3	17,03 „	18,41 „
Fe_2O_3	4,99 „	8,21 „
Mn_2O_3	0,14 „	0,08 „
CaO	1,22 „	1,46 „
MgO	1,53 „	1,52 „
K_2O	1,15 „	0,74 „
Na_2O	0,71 „	0,40 „

Ein Ton B brauchte, um zur Ausbildung seiner Kolloidstoffe gebracht zu werden, etwa die dreifache Menge an Hydroxylionen als der Ton A.

Die chemische Analyse vermag allerdings nicht genau anzugeben, wie sich ein Ton gegen die Hydroxylionen verhalten wird. Beachtenswert scheint der Gehalt an organischen Stoffen zu sein. Ein besseres Erkennungsmittel ist das folgende: Wirft man ein faustgroßes Stück eines solchen Tones im lufttrockenen Zustande ins Wasser, so dringt dieses in seine feinen Poren und Kanäle ein, indem es die darin enthaltene Luft vertreibt; die Folge ist, daß binnen kurzem der Ton in ein feines Pulver zerfallen ist.

Auch bestimmte Kaoline treten in der oben geschilderten Weise mit den Hydroxylionen in Reaktion.

Endlich ist auch die chemische Zusammensetzung des verwendeten Leitungs- oder Quellwassers — abgesehen vom Aq. dest. — etwas dabei maßgegend.

Es scheint, als ob die in ersterem enthaltenen Elektrolyte bei der Ausbildung der Kolloidstoffe aus dem Ton mitwirkten.

Das benutzte Wasser hatte folgende Zusammensetzung nach der Analyse:

K_2O, Na_2O	3,15 %
CaO	5,98 „
MgO	1,71 „
Fe_2O_3 und Al_2O_3	0,01 „
Cl	3,83 „
SO_3	7,19 „
SiO_2	0,05 „
CO_2 frei und halb gebunden	5,17 „

Die Einwirkung der Hydroxylionen auf Kolloidtone und die Ausbildung ihrer Kolloidstoffe spielt bei drei technischen bzw. einem technisch-landwirtschaftlichen Prozesse eine Rolle:

erstens bei meinem „Kolloidtonreinigungsverfahren für Fabrik- und städtische Abwässer“[1]), hier wirkt dieser Vorgang klärend und reinigend auf diese;

zweitens bei der Kaolinschlemmerei[2]), hier wirkt dieser Vorgang auf die sehr feinen Kaolinemulsionen, die nur ein spezifisches Gewicht von 1,035 bis 1,060 haben und deshalb 5 bis 6 Tage zum Absitzen brauchen, sedimentationsbeschleunigend;

und drittens bei der „Mergelung“ des Ackerbodens[3]), hier bewirkt dieser Vorgang eine Ausbildung der Kolloidstoffe des Bodens, seine Auflockerung und damit seine erhöhte Fruchtbarkeit.

---

[1]) Das Kolloidtonreinigungsverfahren für Fabrik- und städtische Abwässer. Chem. Ind. 1910.

[2]) Über die Wirkung von Hydroxylionen auf Kaolinemulsionen. Kolloidztg. 1912.

[3]) Vgl. P. Rohland, Über die Einwirkung der Hydroxylionen auf Tone und tonige Böden bei der „Mergelung“. Landw. Jahrb. 1913.

Verbesserte Methodik bei der elektrometrischen Reaktionsbestimmung biologischer Flüssigkeiten.

Von

K. A. Hasselbalch.

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 15. Februar 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Der von mir[1]) angegebenen „Schaukelmethode" zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration kohlensäurehaltiger Flüssigkeiten haften einige Übelstände an, die zu beheben mir jetzt gelungen ist.

Prinzip und Ausführung der Methode setze ich bei den Lesern dieser Zeitschrift als bekannt voraus und beschränke mich darauf, auf die Schwierigkeiten aufmerksam zu machen und den kleinen Kunstgriff anzugeben, wodurch diese Schwierigkeiten beseitigt werden können.

I. Flüssigkeiten, die größere Mengen locker gebundenen Sauerstoffs enthalten, wie Blut, geben bei der elektrometrischen Messung erst dann das bleibende Potential, wenn die Flüssigkeitsschichten, worin die Elektrode hineintaucht, vollständig reduziert sind. Dieser Zeitpunkt tritt natürlich am schnellsten ein, wenn die Flüssigkeitsschicht minimal ist, und in der Kombination meiner „Schaukelmethode" mit der von Michaelis und Rona[2]) angegebenen „Methode des geringen Eintauchens" der Elektrode liegt deshalb eine Möglichkeit, schnelle und zuverlässige Messungen an Flüssigkeiten wie Blut zu machen. Ich bin dabei bisher so vorgegangen, daß der Kontakt zwischen Blut und Elektrode ganz minimal war; blieb nach dem

---

[1]) Diese Zeitschr. 30, 1910.

[2]) Diese Zeitschr. 18, 1909.

Schaukeln des Gefäßes etwas Blut an den Wänden haften, so daß bei erneuerter Messung kein Kontakt mehr da war, so brachte ich ihn durch leises Zusammendrücken des abführenden Kautschukschlauches zuwege.

Wenn man dieses Vorgehen nicht genau befolgt, sondern die Elektrode 1 bis 2 mm oder mehr in das Blut hineintauchen läßt, wird man beim schnellen Arbeiten mit der Methode immer zu saure Werte bekommen. Nur so kann ich es mir erklären, daß in meinem Laboratorium Lundsgaard[1]) für das menschliche Blut Werte des p_H gefunden hat, die um ca. 0,15 niedriger sind als die, die ich jetzt in großer Anzahl gemessen habe.

Wenn man auf das minimale Eintauchen der Elektrode im Blut achtet, erhält man, wie ich auch früher angegeben habe, nach 400 bis 800 Drehungen des Gefäßes einen Potentialwert, der sich stundenlang konstant hält, und (was ich jetzt hinzufügen möchte) genau denselben Wert, der sich nach der vollständigen Reduktion der ganzen Blutportion einstellt.

Daraus folgt, daß wenn man an dem besonders schnellen Arbeiten kein hervorragendes Interesse hat, man in gewissem Fällen mit dem tiefen Eintauchen der Elektrode sicherer geht, wobei der konstantbleibende Potentialwert sich erst dann einstellt, wenn das Blut vollständig reduziert ist. Mit der später zu beschreibenden Methodik dauert das bei 18 bis 20° ungefähr $^3/_4$ bis 1 Stunde, so daß die ganze Bestimmung mit einer Erneuerung der Blutportion ungefähr 1 $^1/_2$ bis 2 Stunden dauert. Bei Bluttemperatur ziehe ich die schnellere Methode vor, weil Blut in vitro unter diesen Bedingungen langsam saurer wird, was auch Michaelis und Davidoff[2]) gefunden haben.

II. Flüssigkeiten, die salzhaltig sind und dabei an solchen Verbindungen („Puffern"), die die C_H festlegen, relativ arm sind, die aber wegen ihres Gehaltes an CO_2 mit der „Schaukelmethode" (mit Wechseln der Flüssigkeit) gemessen werden müssen, weil die ursprüngliche Form der Elektrometrie mit Wasserstoffdurchleitung zu alkalische Werte gibt (Austreibung der CO_2!), haben recht große Schwierigkeiten bereitet. Prof. S. P. L. Sörensen hat mich darauf aufmerksam

[1]) Diese Zeitschr. 41, 1912.
[2]) Diese Zeitschr. 46, 1912.

gemacht und mir das anscheinend launenhafte Benehmen von Meerwasser und von Aufschlemmungen von Blutkörperchen in reichlichen Mengen von 0,85 $^0/_0$ NaCl demonstriert. Kurz und schematisch gefaßt, bestehen die Schwierigkeiten darin, daß man sofort nach dem Schaukeln solcher Flüssigkeiten ein Potential messen kann, das (wie man es z. B. mit Meerwasser colorimetrisch konstatieren kann) ziemlich korrekt ist; innerhalb von Minuten, bisweilen von Sekunden, fängt aber das Potential an sich zu ändern, gewöhnlich zu fallen, und von einer brauchbaren Konstanz ist keine Rede. Auf die Einzelheiten und die Bedingungen dieser sonderbaren und, wie gesagt, launenhaften Erscheinung gehe ich nicht ein, sowie ich mich von jedem Erklärungsversuch fernhalte. Abgeholfen mußte aber dem Übelstand werden, und das ist mir, in freundlicher Mitarbeiterschaft mit den Herren Sörensen und Palitzch aus dem Carlsberg Laboratorium, auf folgende Weise gelungen:

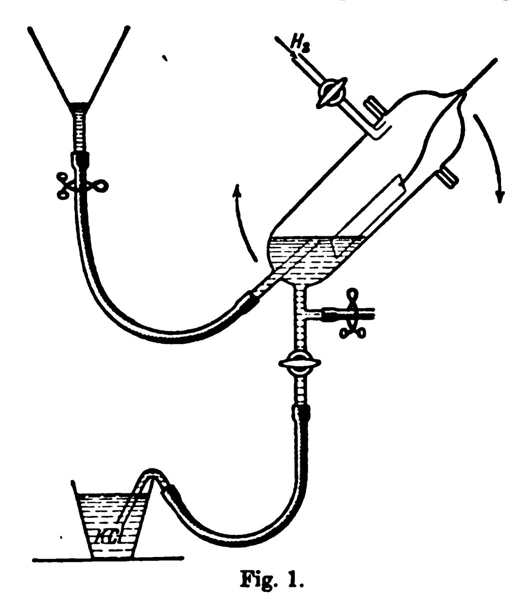


Fig. 1.

Fig. 1 zeigt das Elektrodengefäß, das von der ursprünglich[1]) angegebenen Form nur unwesentlich abweicht. Die über ihre ganze Oberfläche platinierte Platinelektrode ist

[1]) Diese Zeitschr. 30, 1910.

so angebracht, daß sie während des Schaukelns von der Flüssigkeit total überspült wird. Das Schaukeln geschieht maschinell (60 bis 90 Drehungen pro Minute, in der Richtung und Ausdehnung, die von den Pfeilen [Fig. 1] angegeben werden) und ist, was von Wichtigkeit ist, permanent. Die Ablesungen des Elektrometers werden hin und wieder während des Schaukelns vorgenommen und zeigen einen hyperbolischen Anstieg des Potentials, mit gewöhnlich nach 20 bis 30 Minuten konstantbleibenden Werten. Bei Meerwasser muß man die Flüssigkeitsportion gewöhnlich 4 bis 5mal erneuern, ehe das Potential, das für jede Erneuerung mit immer abnehmender Erhöhung einen asymptotischen Grenzwert anstrebt, praktisch unverändert bleibt. So lange braucht man aber gar nicht fortzufahren, ja man darf es sogar nicht tun, weil so langwierige Bestimmungen, vermutlich wegen allmählicher Entweichung des Wasserstoffs, oft unzuverlässig werden. Viel besser ist es, bei gut arbeitender Elektrode und bei konstanter Temperatur, nach 2 oder 3maliger Erneuerung der Flüssigkeit, aus den drei oder vier so gewonnenen Werten auf den Schlußwert des $p_{H^{\cdot}}$ zu extrapolieren, was mit einer Genauigkeit von $\pm$ 0,01 möglich ist. Das so gewonnene Resultat stimmt mit der colorimetrischen Messung, oder (bei CO_2-freien Flüssigkeiten) mit der Elektrometrie mit H_2-Durchleitung, vollständig überein. Bei unverdünntem Blut, das an Puffern bedeutend reicher ist, genügt eine einzelne Erneuerung der Portion.

Daß das Schütteln der Elektrode an und für sich zu Fehlern Anlaß geben sollte, wie das Michaelis und Davidoff[1]) vermuten, kann ich nicht bestätigen. Überall, wo ich auf andere Weise, colorimetrisch oder elektrometrisch mit H_2-Durchleitung, meine Resultate habe kontrollieren können, sind sie auf weniger als 1 Millivolt korrekt gewesen.

Wo man nur ganz kleine Flüssigkeitsmengen zur Verfügung hat, benutze ich das auf Fig. 2 skizzierte Elektrodengefäß, das in halbnatürlicher Größe wiedergegeben ist. Das Verfahren ist, wo es sich um Blut handelt, insofern kompliziert, als die $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes bei natürlicher CO_2-Spannung

[1]) l. c., S. 133, Fußnote.

gemessen werden muß. Weil man unzweifelhaft auch bei anderen biologischen Flüssigkeiten dieser Forderung gerecht werden sollte, möchte ich meine Anordnung zur $C_{H^{\cdot}}$-Bestimmung des menschlichen Blutes im einzelnen kurz beschreiben.

In eine 20 ccm haltende Glasspritze mit Glasstempel und abnehmbarer Glasspitze kommen einige Körnchen Hirudin und dann 2 bis 3 ccm Blut aus dem Ohrläppchen. So viel Blut bekommt man in den meisten Fällen ohne Schwierigkeit, und zwar innerhalb $^1/_2$ Minute, wenn man zuvor das Ohrläppchen leicht massiert, einen oder zwei Einstiche mit dem gewöhnlichen Schnepper zur Blutprobenahme macht und dann mittels eines um den Hals gelegten Schlauches für eine leichte venöse Stase des Kopfes sorgt. Das Blut wird dann bis zum Ende eines kurzen, über die Spitze gestülpten Kautschukschlauches getrieben und dieser abgeklemmt. Jetzt werden aus einem Quecksilberrezipienten unter Überdruck 17 bis 18 ccm der Lungenluft der Versuchsperson in die Spritze getrieben, und das Blut wird so, unter Rotation der Spritze während 15 bis 30 Minuten, mit CO_2 von der alveolaren Spannung[1]) gesättigt.

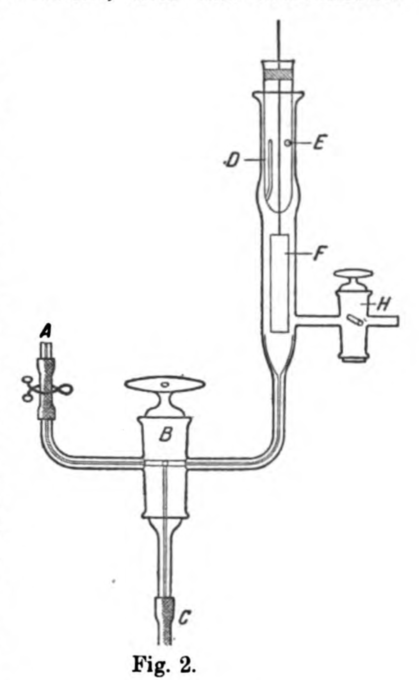


Fig. 2.

Inzwischen ist das armierte Elektrodengefäß mit Wasserstoff gefüllt worden. Der H_2 strömt bei *A* (Fig. 2) ein, passiert die horizontale Bohrung des gut abgefetteten Schwanzhahns *B* und geht durch den Schlitz *D* und das Bohrloch *E*, die an dem inneren, resp. äußeren Schliffteile des mit Vaseline geschmierten Schliffes angebracht sind. Nach vollbrachter Wasserstoffbeladung der Elektrode wird der innere Schliffteil mit der eingeschmolzenen Elektrode so gedreht, wie auf Fig. 2 ersichtlich ist, und der Hahn *B* so umgedreht, daß die Schwanzbohrung in Verbindung mit *A* steht. Aus der Spritze, die in einem Gestell direkt über *A* befestigt wird, kommt dann das Blut, zuerst durch die Schwanzbohrung und durch den Kautschukschlauch *C* mit capillarer, lichter Weite, dann nach Umdrehung des Hahnes *B* und Öffnen des (gut eingefetteten) Hahnes *H* steigt das Blut durch das Gewicht des

---

[1]) oder, wenn man bei 18° arbeitet, von einer um rund 2 mm höheren Spannung.

Glasstempels bis in das Seitenrohr, d. h. so hoch, daß die Elektrode um 3 bis 4 mm eingetaucht ist. Jetzt werden die Hähne umgedreht (der Hahn *B* wird schräg gestellt), der kleine Schlauch unter *A* zusammengeklemmt, und durch *C* die Verbindung mit der 3,5 n-KCl-Lösung und der Kalomelelektrode bewerkstelligt, sowie der Platindraht der Elektrode in leitender Verbindung mit dem Elektrometer usw. gebracht. Das maschinelle Schaukeln kann nun anfangen, und die Ablesungen des Elektrometers erfolgen. Das übrig gebliebene Blut wird mit der Lungenluft in der Spritze weiter rotiert, bis die neue Blutportion eingelassen werden kann. Dies geschieht einfach so, daß temporär das Schaukeln eingestellt, die Verbindung zwischen Spritze und *A* ohne Lufteintritt bewerkstelligt, dann der Hahn *B* entsprechend umgedreht und der Hahn *H* geöffnet wird. Die Lungenluftprobe muß ad modum Haldane[1]) oder auf andere Weise beschafft werden; es ist praktisch, eine so große Probe (30 ccm) zu nehmen, daß sie sowohl für die Füllung der Spritze als auch für die Analyse ausreicht.

Schließlich möchte ich beispielsweise zwei Messungen an Meerwasser bzw. Blut anführen, u. a. um die zur Erreichung der elektromotorischen Konstanz erforderlichen Zeiten zu demonstrieren.

I. Meerwasser, $36\,^0/_{00}$ Salz enthaltend, seit 1 Jahr in einer gewöhnlichen Glasflasche aufbewahrt. Elektrodengefäß wie Fig. 1. Temperatur: 18,1 bis 18,2°. Schaukeln um 4^h angefangen.

$4^h\,25'$: π konstant 0,7845, $p_H = 7,74$. Neue Portion eingelassen.
$4^h\,45'$: π " 0,7766, $p_H = 7,60$. " " "
$5^h\,10'$: π " 0,7742, $p_H = 7,56$.
Extrapolierter Wert . . . $p_H = 7,55$.

Das Meerwasser wurde colorimetrisch zu $p_H = 7,55$ gemessen.

II. Menschliches Blut aus dem Ohrläppchen bei einer CO_2-Spannung von 42,6 mm, 18,9°. (Alveolare CO_2-Spannung 40,9 mm.) Elektrodengefäß wie Fig. 2. Schaukeln um $10^h\,20'$ angefangen.

$11^h\,25'$: π konstant 0,7776, $p_H = 7,60$. Neue Portion eingelassen.
$12^h\,35'$: π " 0,7726, $p_H = 7,52$.

Bei alveolarer CO_2-Spannung, 40,9 mm, und bei 37° würde der p_H dieses Blutes ziemlich genau 7,35 betragen, indem ich gefunden habe, daß (bei gleichbleibender CO_2-Spannung)

[1]) Journ. of Physiol. 32, 1905.

das Blut bei 37° einen um 0,17 niedrigeren p_H als bei 18° zeigt. Michaelis und Davidoff (l. c.) finden einen Unterschied von 0,21. Bei 37,5° ist auch nach diesen Verfassern der p_H des (venösen) menschlichen Blutes im Durchschnitt 7,35. Für defibriniertes Ochsenblut bei 38,5° und 40 mm CO_2 fand ich mit Lundsgaard[1]) $p_H = 7,36$, für arterielles Kaninchenblut bei Körpertemperatur und der CO_2-Spannung des Versuchstieres fand ich mit demselben Untersucher[2]) $p_H = 7,38$, demnach für drei Tierspezies praktisch genau dieselbe Wasserstoffionenkonzentration des Blutes.

Zusammenfassung.

Flüssigkeiten, die dissoziable Sauerstoffverbindungen enthalten, oder die relativ arm an „Puffern" sind, geben bei der elektrometrischen Reaktionsbestimmung mit der „Schaukelmethode" zu gewissen Schwierigkeiten Anlaß, die durch das „permanente Schaukeln" mit stetigem Überspülen der Elektrode leicht beseitigt werden können.

[1]) Diese Zeitschr. 38, 1912.

[2]) Skand. Arch. f. Physiol. 27, 1912.

Über Oxycholestearin.

Von

E. Schreiber und Lénárd.

(Aus der inneren Abteilung des Krankenhauses Magdeburg-Sudenburg.)

(Eingegangen am 16. Februar 1913.)

Bereits im Jahre 1907 hat Lifschütz nachgewiesen, daß es mit Hilfe verdünnter Permanganatlösung gelingt, Cholestearin in Oxycholestearin überzuführen. Noch leichter gelingt diese Oxydation bei Verwendung von Benzoylsuperoxyd, wovon wir uns selbst überzeugen konnten. Lifschütz konnte dann weiter zeigen, daß dieses Oxycholestearin in dem Unverseifbaren des Blutfettes, Knochenmarks, Gehirns und teilweise auch im Pankreas vorkommt. Dagegen fand sich in der Leber merkwürdigerweise kein Oxycholestearin, höchstens in Spuren, die überdies auf die Blutbeimischung im Leberbrei bezogen werden konnten, ebensowenig fand er Oxycholestearin in der Rindergalle und in den Faeces (Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, Heft 1/2; **58**, Heft 2; **63**, Heft 2/3). Diese Mitteilungen haben aber, soweit wir die Literatur übersehen konnten, nur von wenigen Autoren Beachtung gefunden. Um so mehr schien es uns von Wert, dieser Substanz weiter nachzugehen, als man dadurch einen Einblick in den Stoffwechsel des Cholestearins erhoffen konnte. Zeigt doch gerade die letzte Arbeit von Bürger und Beumer (Berl. klin. Wochenschr. Nr. 3, 112, 1913) wie notwendig es ist, auch auf die verschiedenen Formen des Cholestearins, insbesondere im Blut, zu achten.

Während wir anfangs zur Extraktion des Unverseifbaren Äther resp. Petroläther verwandten, extrahieren wir nunmehr nach Eintrocknen der Organe resp. Flüssigkeiten unter Zusatz von absolutem Alkohol mit einem Gemisch von 90,0 Benzin und 10,0 absolutem Alkohol. Nach unseren Erfahrungen ist die Extraktion mit diesem Gemisch entschieden ergiebiger als mit Äther oder Petroläther. Ferner hat sich gezeigt, daß das Eintrocknen absolut notwendig ist, wenigstens konnten wir aus feuchtem Organbrei, auch bei wiederholtem stundenlangen Kochen, das

Unverseifbare nicht quantitativ extrahieren. Bei Flüssigkeiten würde es genügen, sie mit Kieselgur und ähnlichen Mitteln aufzusaugen. Auch wählten wir im allgemeinen die Menge von Organsubstanz nicht allzu klein, von Blut 150 bis 200 ccm und von Organen nicht unter 30 bis 50 g in frischem Zustande. Das Eingetrocknete wird dann etwa 5 mal mit je 100 bis 200 ccm Benzinalkohol 20 bis 30 Min. extrahiert, die vereinigten Extraktionsflüssigkeiten filtriert, eingedampft, der Rückstand mit wenig Chloroform aufgenommen, filtriert, wieder eingedampft und nach dem Trocknen im Trockenschrank als Rohfett gewogen. Dieses wird mit $^1/_2$-normal alkoholischer Kalilauge verseift. Nach der Verseifung wird der Alkohol zunächst vollkommen verjagt, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit Äther mindestens 3 mal ausgeschüttelt, der Äther dann einigemal mit Wasser gewaschen, bis das letzte Waschwasser mit Phenolphthalein nicht mehr reagiert. Der Äther wird dann wieder verdunstet, das Eingedampfte wiederum mit wenig Chloroform aufgenommen, letzterer verdunstet, der Rückstand wird nach gutem Trocknen gewogen. Es ist selbstverständlich, daß dieses Unverseifbare außer Cholestearin und Oxycholestearin noch andere zum Teil uns unbekannte Produkte enthält. Um das Cholestearin und Oxycholestearin quantitativ zu bestimmen, müßte man sie aus diesem Gemisch mit Digitonin nach Windaus fällen. Bei unseren Arbeiten kam es uns zunächst nicht auf die quantitative Bestimmung an, da wir bei unseren blinden Versuchen bisher nicht den Eindruck haben gewinnen können, daß die geschilderte Methode den an eine quantitative zu stellenden Anforderungen entspräche.

Es lag natürlich nahe, zur Bestimmung des Cholestearins und Oxycholestearins auch die Methode von Kumagawa-Suto zu verwenden, indessen werden wir an anderer Stelle zeigen, daß diese Methode zur Bestimmung des Oxycholestearins nicht verwendbar ist, da wir mit Hilfe derselben selbst das zugesetzte Oxycholestearin nicht sicher wieder gewinnen konnten. Wir sind damit beschäftigt, unsere Methode zu einer quantitativen umzugestalten.

Zum Nachweis des Oxycholestearins benutzten wir die von Lifschütz angegebenen Reaktionen: Nach Salkowski gibt trockenes Cholestearin in Chloroform gelöst mit einem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure schnell eine blutrote, kirschrote bis purpurfarbige Lösung. Die Schwefelsäure unter der Chloroformlösung zeigt eine deutlich grüne Fluorescenz, verdünnt man sie mit Eisessig, so wird die Lösung rosa- bis purpurrot und behält die grüne Fluorescenz. Verfährt man dagegen bei dieser Probe so, wie es Lifschütz zum Nachweis des Oxycholestearins beschrieben hat, d. h. wird Cholestearin (Merck) in Chloroform gelöst mit Eisessig verdünnt und mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, so bildet sich zunächst ein braunroter Ring, setzt man zu dieser Lösung einen Tropfen Eisenchlorid, so entsteht sehr bald eine purpurrote bis braunrote Lösung, diese zeigt dann aber nicht die von demselben Autor beschriebenen Bänder im Spektrum. Löst man dagegen das Oxycholestearin in Chloroform,

verdünnt es mit Eisessig und unterschichtet mit 5 bis 8 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so entsteht an der Zwischenschicht auch ein kirschroter Ring, über dem sich alsbald ein blauer oder blauvioletter Ring ausbildet. Schüttelt man dann dieses Gemisch, so färbt es sich entweder blau oder blauviolett und zeigt im durchfallenden Licht eine rotviolette Färbung. Im Spektrum sieht man ein Band, das das ganze Gelb bis ins Grün hinein auslöscht, während im Rot nur eine schwächere Linie auftritt, zwischen den Frauenhofferschen Linien C und d. Läßt man diese Lösung stehen, so wird sie rein grün, auch im durchfallenden Licht, das Band im Gelb verschwindet allmählich, während die feine Linie im Rot sich zu einem tiefen dunklen Streifen ausbildet. Setzt man dagegen zu der Lösung gleich nach Entstehen des violetten Ringes einen Tropfen konzentrierter Eisenchloridlösung, so entsteht sofort die Grünfärbung mit dem charakterischen Spektralbande im Rot. Setzt man zu dieser Lösung nun noch wieder einen Tropfen Chromsäurelösung, so verschwindet die Farbe, indem sich die Flüssigkeit hellgelb färbt, ohne irgendeine Absorption im Spektrum zu zeigen (Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, Heft 4/5, 436 u. diese Zeitschr. 48, 373). Ist in der Lösung, wie das bei den Extrakten aus Blut und Organen der Fall ist, neben dem Oxycholestearin sehr viel Cholestearin vorhanden, so kann die eben angegebene Reaktion verwischt werden. Man verfährt deshalb am zweckmäßigsten so, daß man von dem Unverseifbaren etwas in Chloroform in einem trockenen Reagensglas löst, die Lösung mit Eisessig verdünnt und vorsichtig mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Ist Cholestearin allein in der Lösung enthalten, so entsteht an der Berührungsfläche nur ein roter bis braunroter Ring, ist aber Oxycholestearin gleichfalls zugegen, so bildet sich über diesem noch ein violetter aus. Läßt man nun vorsichtig von oben einen Tropfen konzentriertes Eisenchlorid hineinfallen, so entsteht nach wenigen Augenblicken an der Berührungsfläche eine grüne Verfärbung. Ist viel Oxycholestearin in der Lösung vorhanden, so wird die ganze Lösung blau oder blauviolett und später auf Zusatz von Eisenchlorid bis tief grün.

Zunächst erschien es uns wünschenswert, festzustellen, ob das Oxycholestearin präformiert in den Organen vorkommt, entweder im freien Zustande oder in Form eines Esters. Wir haben zu diesem Zweck frisches Blut mit Kieselgur so lange verrieben, bis eine krümelige Masse entstand, und dasselbe dann im Extraktionsapparat mit Äther extrahiert. Nach Verseifung des Fettes lieferte das wieder mit Äther extrahierte Unverseifbare nach der Trocknung die Oxycholestearinreaktion.

Um auch sicher auszuschließen, daß sich das Oxycholestearin nicht etwa bei unseren chemischen Manipulationen bildet, haben wir folgende Vorversuche angestellt. Etwa 100 g getrocknetes Blut wurde so lange mit Äther extrahiert, bis die letzte

Extraktion kein Fett mehr ergab. Dieses Trockenblut wurde dann mit 250 ccm Wasser, dem 0,2 g in Alkohol gelöstes Cholestearin zugesetzt war, auf dem Wasserbade eingedampft und wieder mit einem Äther-Alkoholgemisch im Soxhletapparat ungefähr 3 Stunden extrahiert. Der Extrakt gab die Essig-Schwefelsäure-Reaktion auf Oxycholestearin nicht.

Diese Versuche haben somit einerseits ergeben, daß das Oxycholestearin wenigstens im Blut präformiert vorkommt, und daß es andererseits nicht etwa durch unsere Methode aus dem Cholestearin entsteht.

Nunmehr gingen wir dazu über, die verschiedenen Organe auf Oxycholestearin zu untersuchen. Wir konnten im wesentlichen feststellen, daß das Oxycholestearin in folgenden Organen zweifellos zu finden ist: Gehirn, Lunge, Herz, Darm, Milz, Niere, Muskel, zuweilen auch im Pankreas, dagegen fehlte es in der Leber, eine Tatsache, die auch schon Lifschütz konstatiert hat. Ausführlicher wird Lénard noch an anderer Stelle über das Vorkommen des Oxycholestearins berichten.

Die auffallende Beobachtung, daß die Leber kein Oxycholestearin enthält, legt natürlich den Gedanken nahe, daß das Oxycholestearin in der Leber weiter verarbeitet wird. Ja, Lifschütz hat sogar vermutet, daß sich dann, da gewisse Beziehungen zwischen den Gallensäuren und dem Cholestearin immer angenommen wurden, aus dem Cholestearin in der Leber Gallensäure bildeten. Diese Frage zu entscheiden, erschien daher besonders interessant.

Zuvor mußte aber noch nachgewiesen werden, daß nicht etwa in der Leber Stoffe vorhanden sind, die bei der Ausführung unserer Darstellungsmethode das Oxycholestearin zerstören, oder daß in dem Unverseifbaren aus der Leber Produkte waren, die die Anwesenheit des Oxycholestearins bei Anstellung der Reaktion verdeckten. Um uns über diesen Punkt Klarheit zu verschaffen, haben wir in verschiedenen Versuchen zu Leberbrei Oxycholestearin hinzugefügt, den Brei dann eingedampft. Wir konnten aber jedesmal das Oxycholestearin, soweit sich aus der Stärke der Reaktion beurteilen läßt, fast vollkommen quantitativ wiedergewinnen. Ebenso bewiesen auch die noch zu schildernden Versuche mit Leberautolyse unter Zusatz von Oxycholestearin, daß der negative Ausfall

der Untersuchung der Leber auf Oxycholestearin nicht der Methode zur Last werden konnte.

So schien in der Tat die Annahme berechtigt, daß die Leber imstande sei, das Oxycholestearin zu zerstören. Wir wurden aber alsbald eines besseren belehrt, denn schon die getrennte Untersuchung des Pfortaderblutes und des Lebervenenblutes, die wir in drei verschiedenen Versuchen durchgeführt haben, zeigte uns, daß auch das Lebervenenblut eine deutliche Reaktion auf Oxycholestearin gab. Die Lebervene wurde selbstverständlich nach obenhin abgebunden, so daß nicht etwa ein Rücktritt aus der Vena cava erfolgen konnte, und mittels einer Kanüle Blut aus ihr entnommen. Wir führen nur einen Versuch hier an, da alle gleichartig verliefen.

Lebervenenblut.

37,7 g getrocknetes Lebervenenblut geben mit Benzinalkoholgemisch extrahiert

0,2340 Rohfett,

daraus wird nach Verseifen und Extraktion mit Äther gewonnen

0,0736 Unverseifbares.

Blut aus der Vena portarum.

29,9 g getrocknetes Pfortaderblut geben ebenfalls mit Benzinalkoholgemisch extrahiert

0,2836 Rohfett,

diese liefern nach Verseifen und Extraktion mit Äther

0,1045 Unverseifbares.

Sowohl das Lebervenenblut, wie auch das Blut aus der Pfortader gibt eine sehr schöne Eisessig-Schwefelsäure-Reaktion. Die Reaktion aus dem Lebervenenblut scheint aber weniger kräftig zu sein, als die aus dem Pfortaderblut.

Da man bei dieser Versuchsanordnung einwenden könnte, daß bei der Abklemmung der Lebervene gegen die Hohlvene gewisse Zirkulationsstörungen in der Leber eintreten dürften und damit der natürliche Abbau gestört sein könnte, so hielten wir es für zweckmäßig, in dieser Beziehung die Frage noch durch Einwirkung von Leberbrei auf Oxycholestearin im Brutschrank zu entscheiden. Wir haben ebenfalls drei derartige Versuche angestellt, von dem wir hier auch nur einen anführen wollen, weil sie ebenfalls alle gleichsinnig ausfielen.

1. 82 g Leberbrei nach 48 Std. der Autolyse unterworfen geben 0,2928 g Unverseifbares;

2. 82 g Leberbrei nach 24 Std. der Autolyse unterworfen geben 0,6090 g Unverseifbares (mit 0,396 Oxycholestearin in 3,317 Öl gelöst);

3. 82 g Leberbrei nach 48 Std. der Autolyse unterworfen geben 0,6422 g Unverseifbares (mit 0,385 Oxycholestearin in 2,737 Öl gelöst).

Dieser eine Versuch zeigt wie die beiden anderen, daß durch die Autolyse eine Zunahme des Unverseifbaren eintritt, wie das bereits bekannt ist. Und dieses Unverseifbare gab sowohl nach 24 wie auch nach 48 Stunden eine deutliche Oxycholestearinreaktion. Allerdings ist auch diese Reaktion, soweit man nach der Stärke der Verfärbung abschätzen kann, geringer als der Menge des zugesetzten Oxycholestearin entsprechen würde.

Endlich haben wir auch noch 4 Durchblutungsversuche an Hundeleber gemacht, und zwar haben wir in dem 1. Versuch zu dem Blut absichtlich 0,1 Oxycholestearin auf 1200 ccm Blut hinzugesetzt und im ganzen 10 mal das Blut durch die Leber hindurchlaufen lassen. Das Durchblutungsblut gab eine ausgesprochene, wenn auch schwächere Oxycholestearinreaktion als das Kontrollblut. Da der Einwand erhoben werden konnte, daß die Fähigkeit der Leber, Oxycholestearin zu verarbeiten, vielleicht nur eine mäßige sei, haben wir in den drei übrigen Versuchen das Blut ohne Zusatz von Oxycholestearin direkt 10 mal durchlaufen lassen. Wir führen einen derartigen Versuch hier an.

150 ccm Kontrollblut werden mit 50 ccm Alkohol eingedampft, diese liefern

0,1800 Rohfett.

Aus diesem wird nach Verseifen und Extraktion mit Äther gewonnen

0,0170 Unverseifbares.

150 ccm Versuchsblut mit 50 ccm Alkohol eingedampft, liefern

0,2850 Rohfett.

Aus diesem wird nach Verseifen und Extraktion mit Äther gewonnen

0,0340 Unverseifbares.

Beide geben sehr schöne Reaktionen, aber das Durchblutungsblut im geringeren Maße als das Kontrollblut.

Wenn somit auch alle Versuchsreihen ergeben haben, daß eine Abnahme des Oxycholestearins nach Einwirkung der Leber zu konstatieren ist, so ist doch auf der anderen Seite offenbar die Abnahme nicht sehr groß und liegt wohl zum Teil auch noch in dem Bereich der Fehlerquellen begründet. Wir können somit wohl kaum annehmen, daß die Leber das Organ ist dem im wesentlichen die Aufgabe des Cholestearinabbaus zufällt. Daß ein gewisser Abbau stattfinden muß, dürfen wir wohl mit Recht aus der Tatsache schließen, daß wir ja in der Leber selbst, wenn für ein genügendes Auswaschen der Leber von Blut gesorgt war, niemals Oxycholestearin gefunden haben. Es ist wohl kaum anzunehmen, daß das Oxycholestearin nicht

in die Leberzelle eindringt, denn das Oxycholestearin ist ja mit dem Cholestearin so eng verwandt, daß es schwierig ist, ihm gegenüber eine derartige selektive Tätigkeit der Leberzelle anzunehmen. Wir sehen höchstens noch weitere Möglichkeiten darin, daß sich in der Leber aus dem Oxycholestearin ein Parling bildet, der nicht mehr mit Benzinalkohol extrahierbar ist, resp. daß der Abbau in der Leber so schnell vor sich geht, daß sich alsbald weitere Oxydationsstufen bilden, die dann im Wasser löslich sind und nicht mehr mit Benzinalkoholgemisch extrahiert werden können. Letztere Möglichkeit ist ja zuzugeben, obwohl dann der Abbau außerordentlich schnell verlaufen müßte, sonst müßte man doch wenigstens Spuren von Oxycholestearin in der Leber finden.

Da die Menge des abgebauten Cholestearins anscheinend gering ist, so dürfte damit die Annahme von Lifschütz, daß das Oxycholestearin eine Vorstufe der Gallensäure sei, hinfällig werden. Man wird jedoch in dieser Frage ein absolut sicheres Urteil zu fällen erst imstande sein, wenn man eine quantitative Bestimmungsmethode des Cholestearins hätte, um theoretisch aus der Menge des abgebauten Cholestearins die Gallensäure, die sich bilden könnte, zu berechnen. Wir werden bis dahin die Entscheidung dieser Frage aufschieben müssen.

Wir haben nunmehr auch in pathologischen Fällen auf das Oxycholestearin gefahndet. Wir werden in einiger Zeit ausführlicher darüber berichten, wollen aber hier schon darauf hinweisen, daß wir in dem Blute von zwei Kranken mit schwerem Coma diabeticum kein Oxycholestearin gefunden haben, während bei einem dritten Zuckerkranken, der die ersten Anzeichen des Koma hatte, noch Spuren von Oxycholestearin gefunden werden konnten. Diese Resultate hat Dr. H. Lifschütz schon in dieser Zeitschr. 48, 373 erwähnt. Im Gegensatz dazu beobachteten wir, daß zwar bei Urämie das Oxycholestearin auch vermindert ist, aber es fehlte doch auch in schwersten Fällen nicht. Das Fehlen von Oxycholestearin bei schwerem diabetischen Koma ist insofern interessant, falls es sich weiterhin bestätigen sollte, als auch dadurch bewiesen würde, daß die Oxydationskraft des Organismus in diesem Zustande herabgesetzt ist. Es hat diese letztere Annahme sehr viel Wahrscheinlichkeit für sich, hat doch auch Conzen darauf hingewiesen, daß beim Coma diabeticum

die Glucuronsäure fehlt, und er hat dieses Fehlen, wie auch Mayer, auf die herabgesetzte Oxydationsfähigkeit des komatösen Organismus bezogen. Es dürfte sich verlohnen, dieser Frage, wenn auch aus reinem theoretischen Interesse, weiter nachzugehen. Demgegenüber ist von Interesse die Beobachtung von Klemperer, der eine sehr starke Zunahme des Cholestearins beim Coma diabeticum gefunden hat. Diese beiden Tatsachen zusammen würden dann auch die Annahme stützen, daß der Abbau des Cholestearins zum Teil wenigstens über den Weg der Oxydationsstufe geschieht.

Das Oxycholestearin hat auch sonst noch eine interessante Eigenschaft, es ist imstande, der Vaseline beigemischt, dem Gemisch die Fähigkeit zu geben, große Mengen Wasser aufzunehmen, was bei Vaseline allein nicht möglich wäre. Wenn man ein Gemisch von Cholestearin und Oxycholestearin in etwas Methylalkohol löst und dann Wasser hinzusetzt, so entsteht eine feine Emulsion. Diese Emulsion hält sich wochenlang ziemlich gleichmäßig, nur wenn der Überschuß an Cholestearin sehr groß war, setzt sich etwas davon zu Boden. Verfährt man mit dem Cholestearin allein so, dann entsteht zwar auch eine Emulsion, aber diese hält sich nicht in dem Maße homogen, wie die vorige. Es ist deswegen auch nicht von der Hand zu weisen, daß das Oxycholestearin im Körper bei der Lösung des Cholestearins im Blut wie in den Zellen von Bedeutung ist. Jedenfalls verdient es mehr Beachtung, als es bisher gefunden hat, und ein weiteres Studium dieses Körpers wird zweifellos mehr Licht in den bisher noch ziemlich unbekannten Cholestearinstoffwechsel bringen, wenn wir auch nicht der Anschauung über die Rolle des Oxycholestearins, die sein Entdecker Lifschütz von ihm hat, beipflichten können.

Es liegt natürlich nahe, ein Gemisch von Oxycholestearin und Cholestearin an Stelle des reinen Cholestearins zu therapeutischen Versuchen zu verwenden. Es ist sogar nicht unwahrscheinlich, daß das Oxycholestearin allein besser wirkt als das reine Cholestearin. Jedenfalls vertragen Tiere die Einspritzung eines Oxycholestearin- und Cholestearingemisches ausgezeichnet. Wir werden über die therapeutischen Versuche, die wir in dieser Beziehung im Gange haben, später noch berichten.

Die Wirkung der Farbstoffe in Verbindung mit Giften und Arzneimitteln.

Von

Josef Sellei, Budapest.

(Eingegangen am 20. Februar 1913.)

In einer früheren[1]) mit diesem Thema sich beschäftigenden Arbeit habe ich mitgeteilt, daß eine mit Methylenblau oder Eosinlösung gemengte Cuprum-kalium-tartaricum-Lösung, unter die Haut von Meerschweinchen injiziert, die Tiere in einigen Stunden tötet, während die nur mit derselben reinen Menge Cuprum-kalium-tartaricum oder mit den Farbstofflösungen allein injizierten Kontrolltiere am Leben bleiben.

Von anderen Mitteln wurde nun Sublimat ($HgCl_2$) einer eingehenderen Untersuchung unterzogen. Da Sublimat mit Methylenblau oder Eosinlösung einen Niederschlag bildet, wurden andere Farbstoffe gewählt, und es zeigte sich, daß besonders Vitalneugelb- und Chrysoidin-Lösungen für diese Versuchszwecke gut verwendbar sind.

Von einer 1%igen wässerigen Vitalneugelblösung (von Herrn Dr. St. Szécsi [Heidelberger Krebsinstitut] mir gütigst überlassen) kann einer weißen Maus über 1 ccm subcutan ohne Schaden für das Versuchstier einverleibt werden. Mengt man aber diese ganz indifferente Farbstofflösung mit so viel $HgCl_2$, von welcher letzteren wir nach toxikologischen Auswertungen z. B. bei Meerschweinchen nach 40 bis 48 Stunden den Eintritt des Todes konstatieren können, so sehen wir, daß nach subcutaner Injektion dieses $HgCl_2$ + Neuvitalgelb-Gemenges der Tod schon viel früher, nach 20 bis 24 Stunden eintritt. Die Injektionen mit $HgCl_2$ rufen starke klonische Krämpfe hervor,

---

[1]) Sellei, Medizin. Klinik 1912, 45.

die aber bei den mit dieser Farbstofflösung + Sublimatgemenge injizierten Tieren längere Zeit andauern uud intensiver auftreten.

Mengen wir Sublimat mit einer Chrysoidinlösung (Chrysoidin ist salzsaures Diamidoazobenzol und ungiftig) und wenden wir z. B. folgende Mengen an:

1. 1 ccm 1 % $HgCl_2$

mit 1 ccm beil. 1 %iger (saturierte und filtrierte) Chrysoidinlösung gemengt, davon auf 100 g Tiergewicht gerechnet 1 ccm subcutan injiziert, so gehen die Versuchstiere in 20 bis 24 Stunden ein.

2. 1 ccm 1 % $HgCl_2$ mit

0,5 ccm Chrysoidin + 0,5 ccm dest. Wasser; ebenfalls die gleiche Menge subcutan eingespritzt. Der Tod tritt gewöhnlich schon in 18 bis 20 Stunden ein.

3. Kontrollversuch:

1 ccm 1 % $HgCl_2$ mit

1 ccm dest. Wasser; davon dieselbe Menge auf 100 g Tiergewicht gerechnet. Tod der Versuchstiere erst nach 36 bis 40 Stunden.

($HgCl_2$ + Chrysoidinlösung bildet einen rötlich-braunen Niederschlag, der sich in wenig Essigsäure löst.)

Goldchlorid (Aurichlorid, $AuCl_3$ + HCl + H_2O).

Injizieren wir von einer 1 %igen Goldchloridlösung auf 100 g Tiergewicht gerechnet 1 ccm (1 cg) unter die Haut der Meerschweinchen, so bleiben die so behandelten Tiere einige Tage am Leben.

Mengen wir jedoch diese Dosis der Goldchloridlösung mit einer Methylorangelösung (Methylorange anders Helianthin, Orange III, Tropäolin D, Goldorange; es ist das Natriumsalz des sulfanilsauren Azodimethylanilins), wobei sich ein starker Niederschlag bildet, und injizieren dieses Gemenge subcutan den Versuchstieren, so verenden diese in 10 bis 14 Stunden. Versuche an weißen Mäusen zeigen noch eklatanter die hohe Toxizität des $AuCl_3$ + Methylorange-Gemenges, gegen die eben weiße Mäuse empfindlicher sind.

Die Lösungen von Goldchlorid mit Tropäolin (00) gemengt [Tropäolin (00) ist das Natriumsalz des sulfanilsauren Azodiphenylamins] töten weiße Mäuse ebenfalls rascher, wie dieselbe $AuCl_3$-Lösung ohne Farbstoff. (Angewendet wurde eine gesättigte, wässerige und filtrierte Tropäolinlösung, die mit Goldchlorid gemengt eine grünliche Farbe bekommt.)

Platinchlorid ($PtCl_4 + 2 HCl + 6 H_2O$). Ebenfalls von einer $1^0/_0$igen Lösung 1 ccm (1 cg) auf 100 g Tiergewicht subcutan injiziert, tötet Meerschweinchen in ca. 3 bis 4 Stunden; 0,8 ccm (8 mg) auf 100 Tiergewicht tötet in 8 bis 10 Stunden. Mengt man jedoch diese Platinchloridlösung mit einer Anilingelblösung (Anilingelb = salzsaures Amidoazobenzol), so gehen die Versuchstiere schon in viel kürzerer Zeit ein. Platinchlorid mit Tropäolin 00 (es entsteht eine rote Lösung) tötet ebenfalls rascher als dieselbe Menge der reinen $PtCl_4$-Lösung.

Kupferchlorid ($CuCl_2 + 2 H_2O$) sowie Kupfersulfat ($CuSO_4 + 5 H_2O$) und Tropäolin (00)-Lösungen gemengt töten Meerschweinchen ebenfalls früher als die reinen $CuCl_2$- oder $CuSO_4$-Lösungen.

Ferrichlorid (Ferri sesquichlorat. cryst. sicc. $Fe_2Cl_6 + 12 H_2O$).

Meerschweinchen vertragen sehr große Mengen von Ferrichlorid in Wasser gelöst. Von einer $1^0/_0$igen Lösung töten erst 25 cg Meerschweinchen in ca. 24 Stunden. Wird jedoch dieselbe Menge — bei gerade so schweren Tieren — mit 0,30 ccm einer $1^0/_0$igen Methylenblaulösung gemengt und subcutan injiziert, so verenden die Versuchstiere schon in 10 bis 12 Stunden.

Vanadium, und zwar von einer $1^0/_0$igen Natrium-vanadinicum-Lösung auf 100 g Tiergewicht 2 cg subcutan eingespritzt, verursacht sehr heftige klonische Krämpfe und führt in 2 bis 3 Stunden den Tod herbei. Wird diese Giftdosis mit 0,3 ccm einer $1^0/_0$igen Eosinlösung (extra b. a.) gemengt injiziert, so sterben die Versuchstiere unter sehr heftigen Krämpfen schon innerhalb 15 bis 20 Minuten. Werden kleinere Dosen des Natr. vanadin. angewendet, so verläuft natürlich die Vergiftung etwas langsamer. So wurden z. B. in einem Versuch auf 100 g Tiergewicht gerechnet, 4 mg subcutan injiziert, und zwar bekam:

Tier	Nr.	1 = 1,3 cg	Natr. vanadin.	
„	„	2 = 1,4 „	„	mit 0,10 ccm $1^0/_0$iger Eosinlösung
„	„	3 = 1,3 „	„	„ 0,30 „ „ „
„	„	4 = 1,4 „	„	„ 0,50 „ „ „
„	„	2	verendet nach	$5^1/_2$ Stunden
„	„	3	„ „	6 „
„	„	4	„ „	23 „
„	„	1	„ „	21 „

Aus diesem und den wiederholten Versuchen folgt also, daß Natrium vanadinicum mit Eosin gemengt — bis zu einer gewissen Dosis (0,10 bis 0,30 ccm) des Farbstoffes — außerordentlich toxisch für Meerschweinchen ist, daß eine größere Dosis Eosin jedoch, mit Natrium vanadinicum gemengt, schon eine Abnahme der Giftigkeit nach sich zieht.

Aus diesen angeführten Beispielen ist ersichtlich, daß bestimmte Metallsalzlösungen, mit Farbstofflösungen gemengt, bei den Versuchstieren sehr toxisch wirken können. Nach Traube, Provazek werden gewisse Farbstoffe wie Methylenblau, Neutralrot und Azur durch Zusatz von Natriumcarbonat in ihrer Giftwirkung auf Colchidien (Protozoen) verstärkt. (Diese Zeitschr. 1912, S. 472 und 497.) Nach Traube handelt es sich hier um eine teilweise Spaltung des Farbstoffes durch das Alkali; diese Erscheinungen sind von dem Gesichtspunkte der Kolloidchemie zu betrachten. „Basische Farbstoffe, die die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen, sind meist gegen Kaulquappen giftiger als solche, die keine Erniedrigung der Oberflächenspannung bewirken.“ Die Oberflächenspannung ist einer der wichtigsten Faktoren der Giftigkeit, außerdem kommen noch die Teilchengröße und die elektrische Ladung des Farbstoffes in Betracht. Farbstoffe, — so meint nun weiter Traube — die an sich relativ ungiftig sind, wie z. B. Methylenblau, Toluidinblau, Methylgrün, werden durch Zusatz von Natriumcarbonat verstärkt, bei anderen hingegen, wie z. B. bei Nachtblau, Nilblau, Malachitgrün und Fuchsin, die an und für sich giftige Farbstoffe sind, konnte durch Alkalizusatz keine Verstärkung der Giftigkeit beobachtet werden.

Neben der die osmotische Geschwindigkeit beeinflussenden Oberflächenspannung spielt also — nach Traube — in bezug auf die Osmose und mit derselben auf die Giftigkeit in erster

Linie die Teilchengröße eine Rolle. (Zitiert nach Traube, diese Zeitschr. 1912, S. 498, 499.)

Ich habe es für notwendig gehalten, mich mit diesen Anschauungen etwas eingehender zu beschäftigen, da ich für die Erklärung der zuvor angegebenen und weiter noch zu besprechenden Versuche auch den seitens der Kolloidchemie vertretenen Standpunkt zu berücksichtigen für notwendig halte.

Bekanntlich ist es für die Wirkung der verschiedenen Metallsalze nicht gleichgültig, ob dieselben als Kristalloide oder als Kolloide angewendet werden. Kupfer, Barium, Argentum z. B. wirken als Kolloide viel weniger giftig, als in den krystalloiden Verbindungen. Es muß demzufolge die Frage noch offen gelassen werden, ob die Beimengung bestimmter Farbstoffe in dieser Beziehung nicht Veränderungen hervorruft, weiter ob die Farbstoffe nicht als Kolloide die Wirkung der Metallsalze ändern. Von einigen Alkaloiden wie z. B. vom Curarin, Strychnin ist es längst bekannt, daß diese viel langsamer und schwächer wirken, wenn man sie gemischt mit den Lösungen kolloidaler Metalle injiziert.[1]) Eine Änderung der Wirkung, hervorgerufen durch die Beimengung von Lösungen kolloidaler Metalle, konnte ich wenn auch zu den soeben angeführten Angaben im gegenteiligen Sinne — da ich keine Verringerung sondern eine Erhöhung der Toxizität erreichte — beim Versuch mit Cu k. tartar. (Medizinische Klinik 1912, Nr. 45) gewinnen. Dieses Kupferpräparat gewinnt nämlich an Toxizität, wenn dasselbe mit etwas Zinkkolloid gemengt injiziert wird.

Bezüglich der Erhöhung der Giftigkeit der Farbstoffe durch Alkalizusatz habe ich aber bei Methylenblau die Daten Traubes im Tierversuch nicht bestätigen können, was freilich seine Angabe gegenüber Colchidien nicht tangiert. Wir können nämlich entweder Natrium bicarbonicum oder Normal-Natronlauge in sehr großen Dosen mit Methylenblau mengen, ohne daß dieses Gemenge für Meerschweinchen größere Toxizität erlangen würde.

II.

Die bisher mitgeteilten Versuche zeigten also, daß bestimmte Metallsalzlösungen, mit bestimmten Farbstofflösungen

[1]) Fränkel, Arzneimittelsynthese 1912.

gemengt, sehr toxisch auf die Versuchstiere wirken können. Nun können wir jedoch wieder in einer anderen Versuchsreihe eine Abnahme der Giftigkeit beobachten, wenn Metallsalzlösungen, mit Farbstofflösungen gemengt, den Tieren injiziert werden.

Lösen wir Kupfersulfat ($CuSO_4 + 5H_2O$) entweder in physiologischer Kochsalzlösung oder in destilliertem Wasser zu 1 % auf und injizieren auf 100 g Tiergewicht gerechnet 1 ccm (1 cg) unter die Haut von Meerschweinchen, so bekommen die Tiere sofort nach der Injektion klonische Krämpfe, die jedoch nicht lange anhalten. Die Tiere gehen bei Anwendung dieser Dosis gewöhnlich in 36 bis 48 Stunden zugrunde. Mengen wir jedoch diese Kupfersulfatlösung, und zwar 2 ccm $CuSO_4$ mit 0,30 ccm einer 1 %igen Methylenblaulösung und injizieren dieses Gemenge unter die Haut, so bekommen die Tiere nach der Injektion sehr heftige klonische Krämpfe, die etwas längere Zeit als im vorigen Versuche anhalten, dann aber verschwinden; die Tiere erholen sich wieder und bleiben am Leben[1]). Dasselbe sehen wir bei Anwendung von Cuprum aceticum (Cupriacetat). Die reine Lösung dieses Kupfersalzes in derselben Menge wie beim Versuch $CuSO_4$ tötet gewöhnlich in 48 Stunden, hingegen hebt ein Gemenge mit Methylenblau (1 %) die Toxizität auf. Die klinischen Symptome sind ebenfalls heftigere bei den mit Farbstoff und Cuprum acet. gemachten Injektionen wie in dem Versuche, wo nur Cuprum acet. allein angewendet wurde.

Kupferchlorid (Cuprichlorid, $CuCl_2 + 2H_2O$) in einer 1 %igen Kupferchloridlösung auf 100 g Tiergewicht 1 ccm subcutan injiziert tötet Meerschweinchen in 5 bis 8 Stunden. Wenn wir nun von dieser Lösung zu 2,5 ccm $CuCl_2$-Lösung 0,3 ccm (1 %) Methylenblau mengen, so bleiben die Tiere am Leben. (Bezüglich der Lebensdauer s. Tabelle.)

Ferrum-sulfuricum (Ferrosulfat, $FeSO_4 + 7H_2O$). 10 cg von einer Ferrumsulfat-Lösung (1 %) tötet Meerschweinchen in $1^1/_2$ bis 2 Stunden. Wird jedoch diese Lösung mit 0,30 bis 0,50 ccm Methylenblau gemengt, so leben die Tiere noch 18 bis 24 Stunden. Die Hälfte dieser Giftdosis, also 5 cg, auf

---

1) S. Tabelle.

250 g Tiergewicht gerechnet, ruft den Tod in 6 bis 7 Stunden herbei. Mengen wir jedoch dieses Quantum mit 0,30 ccm einer 1 $^0/_0$igen Methylenblaulösung, so leben die Tiere $1^1/_2$ bis 2 Tage und manchmal auch noch länger.

Wie ich in der Einleitung dieser Arbeit erwähnte, nimmt die Toxizität des Cuprum kalium tartaricum in außerordentlicher Weise zu, wenn man diese Kupferlösung mit Methylenblau oder Eosin mengt. In den zuletzt angeführten Versuchen mit anderen Kupferpräparaten sehen wir aber gerade das Gegenteil. Diese Versuche zeigen also, daß ein und dasselbe Metall — in unseren Versuchen am eklatantesten das Cu — in verschiedenen chemischen Verbindungen (mit verschiedenen Anionen), mit einer und derselben Farbstofflösung gemengt, ganz verschiedene Wirkungen auszuüben imstande ist.

Cu k. tart. + Methylenblau tötet Meerschweinchen (im Durchschnitt) in 2 bis 3 Stunden.

Cu acet. + Methylenblau tötet Meerschweinchen (im Durchschnitt) in 3 bis 4 Tagen.

$CuSO_4$ + Methylenblau tötet Meerschweinchen (im Durchschnitt) in 8 bis 10 Tagen.

$CuCl_2$ + Methylenblau tötet Meerschweinchen (im Durchschnitt) in 12 bis 16 Tagen.

Giftdosis = 1 cg auf 100 g Tiergewicht.

Farbstoff = 0,30 ccm 1 $^0/_0$iges Methylenblau auf 2,0 bis 2,5 ccm Giftdosis.

(Ferrichlorid + Methylenblau tötet rascher als dieselbe Menge Ferrichlorid ohne Farbstoff; hingegen ist Ferrum sulfur. + Methylenblau oder Eosin wieder viel weniger giftig, wie dieselbe Dosis einer reinen Ferrum-sulf.-Lösung. [Ich muß bemerken, daß die chemische Reinheit des Fe_2Cl_6 nicht untersucht wurde.])

Von den Kupfersalzen wirkt am giftigsten $CuCl_2$, dann folgt $CuSO_4$, Cu aceticum und zuletzt Cu kalium tartaricum.

In den Versuchen mit Methylenblau sehen wir wieder, daß Cu kalium tartaricum mit Methylenblau die stärkste Giftwirkung entfaltet, dann folgt Cu acet. + Methylenblau, diesem $CuSO_4$ + Methylenblau und zuletzt $CuCl_2$ + Methylenblau. Das

am giftigsten wirkende Kupfersalz, das $CuCl_2$, wird mit Methylenblau gemengt am stärksten entgiftet, hingegen wirkt das am wenigsten giftig wirkende Cu kalium tartaricum mit Methylenblau gemengt am meisten toxisch.

III.

Schon bei den Versuchen mit Cu kalium tartaricum haben wir gesehen, daß entsprechend der Konzentration dieser Lösung bei den Versuchstieren schwächere oder stärkere Zuckungen und Krämpfe auftreten können. Doch werden diese Krämpfe viel intensiver, wenn dieses Kupferpräparat, mit Methylenblau oder Eosin gemengt, angewendet wird. Es scheint, daß hierdurch teils lokale Ätzungen, teils aber in den peripheren Nerven starke Reizwirkungen ausgelöst werden und daß dieselben die Ursachen der sehr heftigen klonischen Krämpfe sind[1]). (Bemerkt muß werden, daß eine zweite nach einigen Tagen folgende Injektion meist schon mit schwächeren Reizwirkungen einhergeht.) Ein dem Cu kalium tartaricum + Farbstoff ähnliches klinisches Verhalten können wir auch bei den anderen mit Farbstoff- und Metallsalzlösungen ausgeführten Versuchen beobachten. Besitzen die hier zur Anwendung gelangten Metallsalze an und für sich schon starke Ätzwirkungen, so werden dieselben durch Zusatz von bestimmten Farbstofflösungen noch erhöht. Denn alle diese Gemenge verursachen viel ausgebreitetere und tiefere Nekrosen als die reinen ohne Farbstoff angewendeten Metallsalzlösungen. Es scheint nicht unmöglich zu sein, daß von den hier angegebenen Metallsalzen einige als stark fixierende Mittel, als sogenannte Beizen eine Rolle spielen, weshalb auch vielleicht die Umgebung bzw. Cutis und Subcutis der Injektionsstelle in größerem Umfange und längere Zeit blau verfärbt bleiben, als nach den nur mit reinem Methylenblau gemachten Injektionen.

---

[1]) Wolfgang Heubner (Archiv f. exp. Pathologie und Therapie 1907) hat bei Analyse der Goldwirkung gefunden, daß die Vergiftung in einer Lähmung der contractilen Elemente der Blutcapillaren besteht, und nach Schmiedeberg (zitiert von W. Heubner) ist auch die Arsenikvergiftung als eine Capillar-Vergiftung aufzufassen (S. Münch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 8).

In meiner früheren Arbeit erwähnte ich, daß nach der Injektion mit Metallsalz + Farbstoff-Gemenge erst die Subcutis der Injektionsstelle dann das Peritoneum usw. verfärbt erscheint. Dies bezieht sich aber nur auf jene Fälle, in denen die Injektionen in die Rückenhaut gemacht worden sind. Da ich in meiner ersten Arbeit auch die Vermutung ausgesprochen habe, daß den Farbstoffen vielleicht eine gewisse transportierende Fähigkeit zugesprochen werden kann, will ich nochmals auf diesen Punkt zurückkommen.

Der Gang der Farbstoffresorption hängt in erster Linie von dem Orte der Injektion ab. Macht man z. B. am Nacken der Versuchstiere die Injektionen, so ist am stärksten die Subcutis des Nackens, dann das Brustfell blau verfärbt, weiter folgt das Peritoneum, das aber schon schwächer blau tingiert ist; gleichfalls schwächer sind einzelne Gedärme, Lymphgefäße usw. verfärbt. Wir können also eine gewisse Tendenz der Farbstoffresorption seitens des Peritoneums und der Gedärme unmöglich verkennen. Bei den Versuchen mit Kupfer-kalium-tartrat können diese Resorptionsverhältnisse immer gut verfolgt werden. Nicht so aber bei den anderen Versuchen. Es ist vielleicht möglich, daß die Gedärme, deren elektive Kraft auf das Kupfer unleugbar zu verkennen ist — wirken doch toxische Dosen des Kupfers in ausgesprochener Weise auch auf die Gedärme —, in bestimmten Farbstoffvehikeln dasselbe noch stärker aufnehmen, da es eben durch den Farbstoff in bevorzugter Weise dahin transportiert wird. Doch ließe sich dies mit Sicherheit nur auf biochemischem Wege beweisen, und zwar so, daß die Gedärme tatsächlich mehr Cu annehmen, wenn letzteres mit Farbstoffen dem Organismus zugeführt wird. Doch erscheint es wieder auffallend, daß eine Bevorzugung sich nur in jenen Fällen zeigen soll, wo übrigens schon das Cu, als Cu-k.-tart.-Verbindung mit dem Methylenblau gemengt, toxischer geworden ist. Daß einzelne Zellenkomplexe, Organe gegen bestimmte Stoffe, Gifte, Farbstoffe usw. affin wirken, ist eine unleugbare Tatsache. Bestimmte Organe, Gewebe besitzen elektive Fähigkeiten, so z. B. das Rückenmark auf Strychnin, die Gedärme auf Arsen, Kupfer usw. Bezüglich bestimmter Farbstoffe wiesen schon Ehrlich u. a. nach, daß bestimmte Gewebe gegen diese besonders affin sind. Dies bedeutet nun auch soviel, daß bestimmte

Gewebe kraft ihrer elektiven Fähigkeiten gewisse Farbstoffe annehmen. Doch kennen wir die Ursachen dieser „elektiven Kraft“ nicht. Wir glauben, daß jene Stoffe, ob chemische, Farbstoffe oder andere, die mit bestimmten Geweben in Verbindung treten können, gegen diese daher affin sind, auch als „Transporteure“ benutzt werden können[1]). Mit Bestimmtheit und auf exakte Weise ließe sich jedoch diese „Transportwirkung“ nur auf chemischem Wege beweisen, was aber trotz einzelner schon gelungener Versuche schwer durchführbar ist. Dies bezieht sich nun auch auf die Farbstoffe, insofern dieselben als Transporteure in Betracht kommen.

IV.

Auf Grund der hier angegebenen Versuche glaube ich aber immerhin schon sagen zu können, daß bestimmte Metallsalze bzw. deren Lösungen, mit bestimmten Farbstofflösungen gemengt, auf den tierischen Organismus in besonderer Weise toxische Wirkungen ausüben können und daß wieder eine andere Verbindung desselben Metalles, mit derselben Farbstofflösung gemengt, absolut ungiftig wirken kann.

Suchen wir nun eine Erklärung für die hier angegebenen Erscheinungen, so muß folgendes in Betracht gezogen werden: Mengen wir die verschiedenen Metallsalzlösungen mit Farbstofflösungen, so ist in erster Reihe zu untersuchen, ob auf diese Weise chemische Verbindungen entstanden sind oder ob die beiden nebeneinander in den Lösungen vorhanden sind. Sind da tatsächlich neue Verbindungen entstanden, so müßte erst der chemische Bau derselben eingehend untersucht werden, was aber den Rahmen meines Arbeitsprogrammes überschreitet, da ich hier nur die biologischen Wirkungen einiger Metallsalzlösungen mit organischen Farbstoffen einer eingehenderen Untersuchung unterziehen wollte. (Außer den schon angegebenen klinischen Erscheinungen sollen die nach Farbstoff + Metallsalzlösungen auftretenden anderen Erscheinungen bezüglich der Temperatur, des Blutdruckes usw. einer weiteren Mitteilung vorbehalten

[1]) Siehe auch meine I. Mitteilung. Med. Klinik 45, 1912, wie auch diese zuerst von Ehrlich ausgesprochene Idee in seiner Arbeit: „Über die Beziehungen von chemischer Konstitution, Verteilung usw.“ 1898.

werden.) Und wenn auch sehr zwingende Beweise dafür sprechen, daß die Lösungen bestimmter Farbstoffe, also organischer chemischer Substanzen mit bestimmten Metallsalzen, d. h. mit den Lösungen anorganischer Substanzen, hoch toxische oder andererseits ungiftige Verbindungsn eingehen oder Doppelsalze bilden, weil eine chemische Einwirkung zwischen ihnen erfolgte — und ich verweise diesbezüglich nochmals auf den Versuch Vanadium + Eosin, wo die Erhöhung der Farbstoffmenge direkt die Erniedrigung der Giftwirkung des Vanadiums zeigt —, so kann trotzdem, wie schon vorher erwähnt, bei diesen hier angeführten Versuchen die Annahme einer kolloidalen Wirkung der Farbstoffe nicht ganz fallen gelassen werden. Weiter ist es sehr auffallend, daß ein Gemenge eines absolut geringen Quantums des Farbstoffes (s. auch I. Mitteilung, wo $1^0/_{00}$ [!] Farbstofflösungen zur Anwendung gelangten) mit einer Metallösung schon auf die Wirkung bestimmter Metallsalze ausschlaggebend ist. Und dies weist wieder auf eine andere Annahme hin, nämlich daß wir es hier vielleicht mit einer katalysierenden Wirkung der Farbstoffe zu tun haben.

P. Ehrlich[1]) kommt in einer seiner Arbeiten auf Grund farbenbiologischer Reaktionen über die Änderung des „chemischen Milieus" zu sprechen. Bestimmte begünstigende Stoffe können z. B. die Funktion der zentralen und peripheren Nervenapparate ändern. Es sind nämlich bestimmte Nervenendigungen durch einen bestimmten Komplex determinierender Eigenschaften charakterisiert, und dieses „chemische Milieu" stellt die Resultate der normalen physiologischen Funktionen dar. Doch nicht nur die Funktion der betreffenden Apparate, sondern auch das „chemische Milieu" und die Speicherungskraft derselben erleidet durch begünstigende Stoffe eine Modifikation. Gewisse Stoffe werden nur dann in bestimmten Organen lokalisiert, wenn gleichzeitig eine zweite Verbindung, die aber mit der ersten keinerlei Verbindungen einzugehen braucht, zugeführt wird. Die von mir angewendeten Farbstoffe haben bekanntlich eine große Diffusionskraft, sie verteilen sich rasch im Organis-

[1]) Über die Beziehung von chemischer Konstitution, Verteilung usw. 1898.

mus und werden von manchen Organen, Zellen für längere Zeit in Beschlag genommen, „gespeichert". Nun ist es möglich, daß bestimmte Farbstoffe jene „begünstigenden" Stoffe sind, welche die durch dieselben veranlaßte Änderung des „chemischen Milieus", die toxische Wirkung bestimmter Metallsalze, besonders beeinflussen, d. h. erhöhen können.

Was geschieht nun, wenn man Farbstoff und Metalllösung, z. B. $CuCl_2$ gesondert injiziert: Wenn man erst Methylenblaulösung unter die Haut der Versuchstiere injiziert und nur später, z. B. nach 40 Minuten auf einer anderen Stelle, die letale Kupferchloridlösung — von der wir wissen, daß sie Meerschweinchen gewöhnlich in 5 bis 8 Stunden tötet —, so sehen wir, daß der Tod der so behandelten Tiere gewöhnlich schon nach einigen Stunden eintritt. Injizieren wir aber 15 bis 20 Minuten nach gemachter Methylenblaueinspritzung die Kupferchloridlösung, so bleiben die Tiere länger (2 bis 3 Tage) am Leben. Es ist nun möglich, daß Methylenblau, das bis zu einer gewissen Menge die toxische, recte letale Wirkung des Kupferchlorids zu paralysieren vermag, von bestimmten Organen, Zellen gespeichert wird. Demzufolge kann das Methylenblau mit dem Kupferchlorid nur wenig oder gar keine Verbindung mehr eingehen, die eben notwendig ist, um die toxische Wirkung des $CuCl_2$ vollkommen zu beheben. (Es muß bemerkt werden, daß z. B. Methylenblau nach Ehrlich im Organismus überhaupt nicht synthetisch verankert werden kann.) Das $CuCl_2$, das im Organismus schon resorbiert wird, kann freilich durch eine nachträglich (25 bis 30 Minnten später) folgende Injektion der Methylenblaulösung nicht mehr paralysiert werden. Die Versuchstiere, die erst mit $CuCl_2$ und später mit Methylenblau behandelt werden, sind gewöhnlich schon zur selben Zeit tot wie die allein nur mit reinem $CuCl_2$ behandelten Versuchstiere. (Folgt jedoch schon in kurzer Zeit, z. B. nach 8 bis 10 Minuten die Injektion des Methylenblaus, so bleiben die Tiere länger [1 bis 2 Tage] am Leben.) Ich habe schon in meiner I. Mitteilung hervorgehoben, daß die klinischen Symptome bei den angeführten Versuchen im großen und ganzen ähnlich sind dem bei der Anaphylaxie auftretenden Symptomenkomplex. Seit dem Erscheinen meiner Arbeit erschien nun von Szymanowski (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 16, 1) eine Studie,

nach der eiweißfällende Mittel anaphylaxieähnliche Erscheinungen erzeugen können. Es ergab sich, daß besonders Sublimat, Tannin und Phosphormolybdänsäure solche Wirkungen ausüben können, die große Ähnlichkeiten mit dem anaphylaktischen Chok aufweisen. Krämpfe, typische Temperaturwirkungen habe auch ich bei meinen Versuchen beobachten können. Inwiefern diese Erscheinungen bei eiweißfällenden Mitteln, wohin wir die in unseren Versuchen angewendeten Metallsalze rechnen, durch Hinzugabe bestimmter Farbstoffe erhöht oder verringert werden können, worauf die hier mitgeteilten Versuche ebenfalls hinweisen, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten werden.

Ein Verfahren zur Chlorbestimmung in Harn und Blut.

Von

K. O. Larsson.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 25. Februar 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Wie allbekannt, ist die gewöhnliche Mohrsche Methode zur titrimetrischen Chlorbestimmung beim Harn aus dem Grunde unbrauchbar, daß hier außer dem Chlor auch andere Körper, vor allem Purinkörper, mit Silbernitrat reagieren. Infolgedessen wird hier das Chlor in stark salpetersaurer Lösung nach Volhard mit überschüssigem Silbernitrat niedergeschlagen, und in dem Filtrat das überschüssige Silber mittels Rhodan bestimmt. Prof. Bang hat aber gelegentlich gefunden, daß sämtliche störenden Körper durch Blutkohle entfernt werden können, während die Chloride unverändert ins Filtrat übergehen und hier nach Mohr exakt bestimmt werden können. Ein solches Verfahren bietet bestimmte Vorteile gegenüber Volhards Methode dar: 1. Man braucht keinen Silberüberschuß zu verwenden. 2. Die Titration ist schärfer, da der Harn durch Kohle völlig entfärbt wird. 3. Die ganze Bestimmung erfordert viel weniger Zeit, da keine Extraabmessungen nötig sind. Man schüttelt nur mit Kohle, filtriert und bestimmt das Chlor nach Mohr in 10 ccm des Filtrates. Ich habe deswegen der Aufforderung Prof. Bangs gern Folge geleistet, das Verfahren für die Chlorbestimmung des Harnes im Detail auszuarbeiten und werde im folgenden darüber berichten. Nach der Erledigung dieser Frage stellte es sich heraus, daß man nach demselben Verfahren auch die Chloride des Blutes bestimmen kann, weshalb die Bedingungen hierfür festgestellt wurden.

1. Bestimmung der Chloride im Harn.

Die Ausführung der Chlorbestimmung. 20 ccm Harn von einem spez. Gewicht bis 1025 (ist das spez. Gewicht höher, muß der Harn mit Wasser verdünnt werden) und saurer Reaktion werden in einem Becherglase mit 1 g oder einem gestrichenen Dessertlöffel Blutkohle (Carbo sanguinis puriss. pro analysi; Mercks Präparat, das nicht ohne weiteres durch andere Präparate ersetzt werden kann) versetzt und damit während 10 Minuten dann und wann geschüttelt. Man filtriert nun durch ein trockenes Filtrum in ein trockenes Becherglas, was schnell vonstatten geht, pipettiert genau 10 ccm von dem wasserklaren Filtrat ab und bestimmt hierin die Chloride nach Mohr mit Kaliumchromat als Indicator und $^{n}/_{10}$-Silbernitrat-Lösung als Titrierflüssigkeit.

Tabelle I.

Nr.	Spez. Gewicht	Farbe	% NaCl nach Volhard	% NaCl nach der Kohlenmethode	Differenz
1	1022	Mittelgelb	1,524	1,524	0
2	1018	Lichtgelb	0,563	0,562	− 0,001
3	1016	Dunkelgelb	{ 0,136	0,139	+ 0,003
			0,136	0,138	+ 0,002
4	1019	Mittelgelb	{ 1,619	1,619	0
			1,620	1,621	+ 0,001
5	1024	Dunkelgelb	{ 1,666	1,665	− 0,001
			1,673	1,666	− 0,007
6	1019	Gelb	{ 1,356	1,354	− 0,002.
			1,355	1,356	+ 0,001
7	1021	Mittelgelb	{ 1,370	1,367	− 0,003
			1,367	1,368	+ 0,001
8	1022	Gelbrot	{ 1,424	1,425	+ 0,001
			1,424	1,423	− 0,001
9	1013	Lichtgelb	0,565	0,568	+ 0,003
10	1021	Mittelgelb	{ 0,962	0,962	0
			0,961	0,960	− 0,001
11	1017	Gelb	0,750	0,750	0
12	1016	Dunkelgelb	0,295	0,293	− 0,002
13	1018	Gelb	0,581	0,581	0
14	1020	Braungelb	0,675	0,676	+ 0,001
15	1017	Mittelgelb	0,283	0,283	0
16	1026	Dunkelgelb	2,178	2,178	0
17	1016	Mittelgelb	0,436	0,435	+ 0,001
18	1014	Gelbgrau	0,340	0,339	− 0,001
19	1019	Dunkelgelb	0,742	0,743	+ 0,001
20	1012	Lichtgelb	0,131	0,131	0

Als Belege für die Brauchbarkeit der Methode wird auf die Tabelle I verwiesen. In 20 Harnen aus der hiesigen medizinischen Klinik wurden die Chloride teils nach Volhard und teils nach der Kohlenmethode bestimmt. Mehrere Bestimmungen sind doppelt ausgeführt. Die Übereinstimmung ist überall ausgezeichnet, indem die größten Differenzen ausschließlich unter den Doppelbestimmungen nach Volhard vorkommen.

Hieraus kann gefolgert werden, daß das Verfahren brauchbar ist, indem die Chloride quantitativ, aber keine anderen durch Silber fällbaren Verbindungen in das Filtrat übergehen. Dies wurde außerdem direkt festgestellt. In dem Filtrat von zahlreichen Proben wurde vergebens auf Purine gefahndet. Die Silberfällung war völlig in Ammoniak löslich. Außerdem wurden reine Kochsalzlösungen direkt und nach Behandlung mit Blutkohle nach Mohr titriert. Eine Adsorption von Chlor ließ sich nicht erweisen. Z. B. wurden gefunden:

0,984 %	NaCl	vor,	0,981 %	NaCl	nach	Behandlung	mit	Blutkohle
0,858 „	„	„	0,856 „	„	„	„	„	„
0,604 „	„	„	0,601 „	„	„	„	„	„

Erst wenn man bedeutend größere Quantitäten Kohle verwendet, kann man eine geringe Adsorption nachweisen (s. unten Kurventafel II).

Drei Verhältnisse verdienen eine nähere Besprechung Erstens die Zeit der Behandlung des Harnes mit Kohle. Oben sind hierfür 10 Minuten angegeben, was allerdings länger als unbedingt nötig ist. Aus der folgenden Kurventafel I (Fig. 1) ist ersichtlich, daß 2 Minuten genügen.

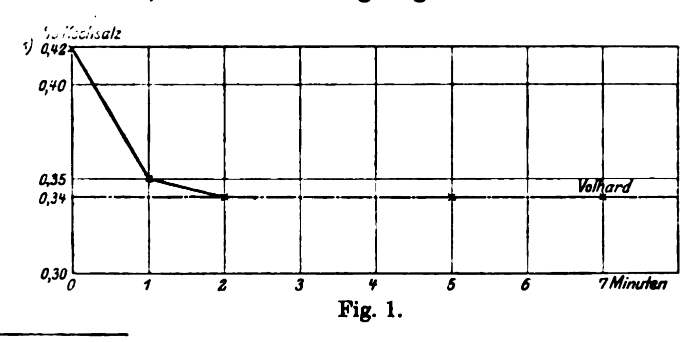


Fig. 1.

[1]) Der Harn wurde direkt nach Mohr titriert.

Und zweitens die Quantität der Kohle. Oben ist 1 g Kohle für 20 ccm Harn angegeben. Aus der Tabelle I ist ersichtlich, daß diese Menge zureichend ist.

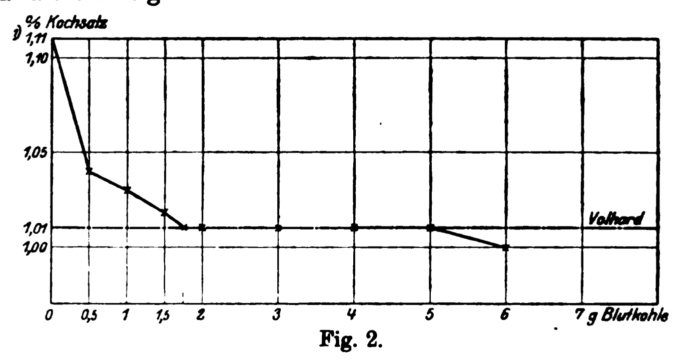


Fig. 2.

Aus der Kurventafel II (Fig. 2) geht weiter hervor, daß sogar 1,75 g Kohle auf 40 ccm Harn genügen (das spez. Gewicht dieses Harnes war 1015). Diese Quantität (1 g : 20 ccm) läßt sich nun aber nicht vermindern. Wohl aber kann man ohne Schaden bedeutend mehr davon — bis etwa 2,5 g für 20 ccm Harn — nehmen. Aus der Tabelle ist aber ersichtlich, daß man schließlich bei 6 g Kohle pro 40 ccm Harn einen geringen Chlorverlust (0,01 %) erzielt. Zum dritten muß man das spez. Gewicht des Harnes berücksichtigen, das nicht mehr als 1025 betragen darf. Ein Harn mit spez. Gewicht 1028 ergab z. B. mit 1 g Kohle (und 20 ccm Harn) 1,82 % Kochsalz, mit 2 g 1,81 % und mit 2,5 bis 4 g 1,80 %. Nach Volhard gefunden 1,80 %. Im Filtrate von 1 g Kohle waren Spuren von Purinen noch nachweisbar (das Filtrat war aber vollständig wasserklar). Bei diesem Harn konnte man auch bedeutend mehr Kohle, ohne Chlorverlust zu erzielen, zusetzen.

2. Die Bestimmung der Chloride im Blute.

Schon Cl. Bernard hat gefunden, daß Kohle ein gutes Absorptionsmittel für Eiweiß ist. Er hat sogar vorgeschlagen, das Blut zur Zuckerbestimmung mittels Kohle zu enteiweißen. Dies geht aber nicht gut, da Zuckerverluste eintreten können. Dagegen hat sich das Verfahren für die Chlorbestimmung des Blutes ebensogut bewährt wie beim Harn. Allerdings ist es

[1]) Der Harn wurde direkt nach Mohr titriert.

notwendig, bedeutend mehr Kohle zu benützen. Die Methode ist genau und sehr bequem. Folglich bedeutet sie einen bestimmten Vorteil gegenüber den gewöhnlichen.

Die Ausführung der Bestimmung gestaltet sich wie folgt: 5 bis 10 g Blut werden in ein 100-ccm-Kölbchen aufgefangen und hier mit ca. 50 ccm kochender 2%iger $MgSO_4$-Lösung versetzt. Die Mischung wird mit ein paar Tropfen 40%iger Essigsäure versetzt und in ein kochendes Wasserbad so lange gestellt, bis die Koagulation beendet ist. Man kühlt ab, füllt Wasser bis zur Marke auf und schüttelt durch. Nach 2 Stunden[1]) gießt man die Flüssigkeit in ein mit 3 g (ein gestrichener Eßlöffel) Blutkohle versetztes Becherglas über, schüttelt durch und filtriert nach ein paar Minuten. Von dem wasserklaren Filtrate werden 50 ccm zu der Chlorbestimmung nach Mohr verwendet.

Die folgende Tabelle II kann als Beleg für die Brauchbarkeit der Methode dienen. Als Kontrolle wurden die Chloride nach Veraschung unter Sodazusatz und Titration nach Mohr bestimmt.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Blut von	Neues Verfahren			Veraschung und Titration nach Mohr	
		Blutmenge verwendet g	Cl als % NaCl berechnet gefunden	Zur Titration benutzt ccm	Blutmenge verwendet g	Cl als % NaCl berechnet gefunden
1	Rind	10,5108	0,509	50	10,5620	0,512
		10,2746	0,503	50		
2	Schwein	10,1417	0,45	60	10,0525	0,44
		10,1019	0,40	50		
3	Rind	10,3566	0,51	50	10,3277	0,51
					10,4506	0,51
4	Rind	10,8891	0,48	50		
		10,4965	0,48	50		
5	Rind	10,0273	0,46	50	10,2090	0,46
		10,1301	0,46	50		
6	Rind	10,5046	0,47	50	10,0276	0,47
		10,3377	0,48	50		

[1]) Möglicherweise kommt man schon mit kürzerer Zeit aus; länger zu warten ist überflüssig. Nach Digestion während 24 Stunden erhält man dieselben Werte wie nach 2 Stunden.

Tabelle II (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Blut von	Neues Verfahren			Veraschung und Titration nach Mohr	
		Blutmenge verwendet g	Cl als % NaCl berechnet gefunden	Zur Titration benutzt ccm	Blutmenge verwendet g	Cl als % NaCl berechnet gefunden
7	Rind	10,0390	0,45	50	10,3190	0,46
		10,3624	0,45	50		
		9,2488	0,45	50		
		5,0710	0,46	62,5		
		2,8832	0,50	70		
		3,1167	0,49	70		
		2,1779	0,49	75		
		1,1812	0,51	80		
8	Rind	10,1063	0,50	50		
		5,4957	0,50	50		
		3,5734	0,52	70		
		2,3804	0,52	75 eingeengt		
		1,0705	0,52	75 „		
9	Rind	10,6840	0,53	50	5,1938	0,53
		4,7908	0,53	50		
		2,9612	0,55	50		
		2,0918	0,54	75 eingeengt		
		1,0840	0,58	75		
10	Rind	9,9342	0,50	50	1,1469	0,50
		10,1522	0,51	50		
		5,1250	0,51	50		
		3,1392	0,51	70 auf 20 eingeengt		
		2,1718	0,53	75 „ 24 „		
		1,9234	0,53	75 „ 17 „		
		1,1540	0,53	75 „ 14 „		
11	Rind	10,0964	0,48	50	4,9048	0,49
		9,9364	0,48	50		
		5,0250	0,48	50		
		3,7128	0,48	75 auf 16 eingeengt		
		2,0580	0,49	75 „ 15 „		
		0,9770	0,55	75		
11	Rind	1,2530	0,51	75 eingetrocknet, in 15 H_2O gelöst		
		1,1220	0,51	75 eingetrocknet, in 7,5 H_2O gelöst		
12	Rind	9,8464	0,52	50	2,3802	0,53
		4,9844	0,52	50		
		2,3148	0,53	75 auf 15 eingeengt		

Aus der Tabelle geht hervor, daß 5 bis 10 g Blut nach dem neuen Verfahren genaue Werte liefern, dagegen bekommt man bei der Verwendung von weniger Blut (1 bis 3 g) zu hohe Werte; dies aus dem Grunde, weil die

sehr verdünnte Chloridlösung — etwa 5 mg in 50 ccm oder 1 : 10000 NaCl — nicht exakt durch Titration bestimmt werden kann. Konzentriert man das Filtrat, so wird dieser Fehler zum größten Teil ausgeglichen, z. B. liefert in einem Versuch 9,9364 g Blut 0,48 % NaCl; 0,9770 g desselben Blutes auf 100 ccm ergänzt usw. und von dem Filtrat 75 ccm zur Titration verwendet 0,55 % NaCl; 1,1220 g Blut auf 100 ccm aufgefüllt, 75 ccm Filtrat eingetrocknet und in 7,5 ccm Wasser gelöst 0,51 %. Die konzentrierte Lösung liefert also bessere, aber nicht exakte Resultate. Der Grund hierfür ist die Gegenwart der konzentrierten (10 %igen) $MgSO_4$-Lösung.

Wie die Titration von reinen Kochsalzlösungen, die mit $MgSO_4$ versetzt sind, ausfällt, zeigen folgende Daten:

1. 75 ccm 1 %ige $MgSO_4$-Lösung (durch Ergänzung auf 100 ccm bei dem oben erwähnten Verfahren wird die 2 %ige $MgSO_4$-Lösung auf 1 % verdünnt) + 0,80 ccm 0,1038 n-NaCl-Lösung verbrauchten 0,88 ccm 0,1038 n-$AgNO_3$-Lösung. Berechnet auf 1,25 g Blut ist 0,58 % NaCl statt 0,51 % gefunden. Differenz = 0,07 %.

2. 75 ccm 1 %ige $MgSO_4$-Lösung + 0,70 ccm 0,1038 n-NaCl-Lösung eingetrocknet und in 7,5 ccm H_2O gelöst verbrauchten 0,73 ccm 0,1038 n-$AgNO_3$-Lösung. Berechnet auf 1,25 g Blut ist 0,47 % NaCl statt 0,45 % gefunden. Differenz = 0,02 %[1]).

3. 50 ccm 1 %ige $MgSO_4$-Lösung + 4,20 ccm 0,1038 n-NaCl-Lösung verbrauchten die berechnete Menge (4,19 ccm) 0,1038 n-$AgNO_3$-Lösung. (Diese NaCl-Menge entspricht 0,51 % NaCl und 10 g Blut.)

Schließlich wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß die Koagulation des Eiweißes durch Kochen unbedingt notwendig ist. Wird dies versäumt, bekommt man 20 bis 30 % zu wenig NaCl, was vielleicht darauf deuten kann, daß das Salz mit dem Eiweiß sich in Bindung befindet.

---

[1]) Wahrscheinlich kann man auch bei Verwendung von 1 bis 2 g Blut exakte Werte bekommen, wenn man nur auf 20 bis 25 ccm ergänzt, eine 1 %ige $MgSO_4$-Lösung zur Kougulation verwendet und mit dem Filtrate ohne Konzentration die Titration anstellt. Einen wesentlichen Vorteil bedeutet aber diese Modifikation nicht. Man kann ebenso leicht 10 ccm wie 1 ccm aus einer Vene des Menschen entnehmen. Und für eine Mikrobestimmung kann man besser die Methode nach **Bang** benutzen.

Weitere Untersuchungen über die Brenztraubensäure-Glucosurie.

II. Mitteilung.

Zur Frage der Zuckerbildung aus Brenztraubensäure.

Von

Paul Mayer (Karlsbad).

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 1. März 1913.)

Durch frühere Untersuchungen hatte ich festgestellt[1]), daß Kaninchen nach subcutaner Zufuhr von brenztraubensaurem Natrium Traubenzucker im Harne ausscheiden, und daß diese Glucosurie durch eine Hyperglykämie bedingt ist. Bei glykogenfreien Tieren trat keine oder nur eine geringe Zuckerausscheidung auf, obgleich auch hier eine, wenn auch schwächere, Blutzuckersteigerung beobachtet wurde. Endlich konnte ich positive Glykogenbefunde erheben nach Verabfolgung von Brenztraubensäure an Kaninchen, die 10 bis 11 Tage gehungert hatten.

Diese Ergebnisse waren um so bemerkenswerter, als durch die Forschungen der letzten Jahre weitgehende Beziehungen der Brenztraubensäure zu den Kohlenhydraten aufgedeckt worden sind. Es sei vor allem an die von Neuberg[2]) festgestellte Tatsache erinnert, daß die Brenztraubensäure durch Hefe wie ein echtes Kohlenhydrat vergoren wird und bei der Vergärung Acetaldehyd und Kohlensäure liefert. Nach Neuberg ist es daher im hohen Grade wahrscheinlich, daß der bei der alkoholischen Gärung des Zuckers gebildete Alkohol auf dem Wege über Brenztraubensäure entsteht.

---

[1]) P. Mayer, diese Zeitschr. **40**, 441, 1912.

[2]) Neuberg und Hildesheimer, diese Zeitschr. **31**, 170, 1911. — Neuberg und Karczag, ebendas. **36**, 68, 1911 u. f.

Daß auch im Tierkörper der Abbau des Zuckers in ähnlicher Weise wie bei der Hefe über Brenztraubensäure geleitet wird, nimmt Embden[1]) auf Grund einer Reihe von Untersuchungen an, die er mit verschiedenen Mitarbeitern ausgeführt hat. Für die Annahme, daß die Brenztraubensäure ein intermediäres Produkt des tierischen Zuckerabbaues darstellt, führt Embden insbesondere die Tatsache an, daß im Leberdurchblutungsversuch Glykogen, Milchsäure und Brenztraubensäure in gleicher Weise zur Bildung von d-Alanin Anlaß geben.

Für den genetischen Zusammenhang der Brenztraubensäure mit den Kohlenhydraten sprechen auch die Versuche von Neukirch und Rona[2]), denen zufolge die überlebende Muskulatur des Herzens und des Darmes nur in Lösungen von Glucose und Mannose bzw. Galactose, sowie von Brenztraubensäure Arbeit verrichten kann, während zahlreiche andere darauf geprüfte Produkte von physiologischer Bedeutung nicht als direkte Quelle der Muskelkraft in Betracht kommen.

Wenn nun wirklich die Brenztraubensäure als Abbaustufe des Zuckers anzusehen ist, so war es von Wichtigkeit, festzustellen, ob die von mir nachgewiesene Glucosurie und Hyperglykämie nach Brenztraubensäurezufuhr durch einen wie immer gearteten Übergang der Brenztraubensäure in Traubenzucker zustande kommen. Wird doch vielfach angenommen, daß die beim Kohlenhydratabbau sich abspielenden Prozesse in weitgehendem Maße reversibel sind, so daß im Falle der Brenztraubensäure der Nachweis des umgekehrten Verlaufes der Reaktion bis zu einem gewissen Grade als Beweis für ihre Entstehung im Abbau gelten könnte.

Obgleich nun verschiedene Momente für die Möglichkeit sprachen, daß bei der Brenztraubensäure-Glucosurie eine synthetische Bildung von Zucker in Frage kommt, so war doch andererseits, wie ich bereits in meiner ersten Abhandlung hervorgehoben habe, der Gedanke nicht von der Hand zu weisen, daß es sich um eine rein toxische Glucosurie handelt, zumal die Brenztraubensäure sich als stark giftig für die Versuchstiere erwiesen hatte.

---

[1]) Siehe Embden und Oppenheimer, diese Zeitschr. 45, 186, 1912.

[2]) Neukirch und Rona, Arch. f. d. ges. Physiol. 146, 371, 1912 u. 148, 285, 1912.

Zur Entscheidung der Frage, ob aus der Brenztraubensäure Zucker gebildet wird, kommen vor allem zwei Versuchsanordnungen in Betracht, einmal die von Grube[1]) inaugurierten Transfusionsversuche an überlebenden Schildkrötenlebern und zweitens die Prüfung der Brenztraubensäure auf ihre Fähigkeit, die Zuckerausscheidung bei phlorizinvergifteten Tieren zu erhöhen.

Den ersten Weg haben inzwischen bereits Parnas und Baer[2]) eingeschlagen. Sie haben festgestellt, daß die Brenztraubensäure in der überlebenden Schildkrötenleber kein Glykogen bildet. Ihre Schlußfolgerung jedoch, daß deshalb die Brenztraubensäure nicht zu den Zuckerbildnern zu zählen ist, scheint mir nicht völlig gerechtfertigt. Denn abgesehen davon, daß Parnas und Baer nur über einen Versuch berichten, können m. E. Experimente, die an überlebenden Kaltblüterorganen angestellt sind, niemals absolute Beweiskraft haben, da sie keine bindenden Schlüsse auf das Verhalten einer Substanz im Tierkörper der Warmblüter gestatten[3]). Überdies betonen Embden und Oppenheimer[4]), daß das Ausbleiben der Glykogenbildung bei der Versuchsanordnung der Autoren durchaus verständlich ist, sobald man annimmt, daß der Hauptweg von Brenztraubensäure zu Traubenzucker über Milchsäure geht, und daß die Reduktion von Brenztraubensäure zu Milchsäure unter den in Frage kommenden Verhältnissen nicht in genügendem Ausmaß erfolgt. Dieser Einwand erscheint mir um so berechtigter, als der Kaltblüterstoffwechsel, wie übrigens Parnas und Baer selbst hervorheben, sich bekanntlich durch besondere Trägheit auszeichnet.

Da also die Frage nach der Zuckerbildung aus Brenztraubensäure nicht als entschieden angesehen werden konnte, habe ich eine Reihe von Versuchen an Kaninchen und Hunden mit Phlorizinglucosurie angestellt. In allen Versuchen

---

[1]) Grube, Arch. f. d. ges. Physiol. 118, 1, 1907.

[2]) Parnas und Baer, diese Zeitschr. 41, 386, 1912.

[3]) Anmerkung bei der Korrektur: Dies um so mehr, als nach neueren Untersuchungen von Bang (diese Zeitschr. 49, 40, 1913) zwei einander so nahestehende poikilotherme Tiere wie Rana esculenta und Rana fusca nicht unerhebliche Unterschiede in ihrem Kohlenhydratstoffwechsel aufweisen.

[4]) Embden und Oppenheimer, l. c.

wurde die Brenztraubensäure subcutan als Natriumsalz verabfolgt[1]).

Versuche an Kaninchen.

Bei den Kaninchenversuchen habe ich eine Versuchsanordnung von Parnas und Baer[2]) befolgt. Diese Autoren haben festgestellt, daß bei hungernden Kaninchen nach Injektion einer geeigneten Dosis Phlorizin die Zucker- und Stickstoffausscheidung in der zweiten 12stündigen Periode eine ganz leichte Senkung zeigt; führt man zu Beginn der 2. Periode Dextrose zu oder eine Substanz, die in Traubenzucker übergeht, so tritt eine Erhöhung der Zuckerausscheidung ein, während die Stickstoffausscheidung konstant bleibt oder absinkt.

Die Experimente wurden so angestellt, daß die Tiere 3 Tage knapp ernährt wurden (70 g Kartoffeln oder 50 g Milch und 10 g Heu) und ca. 40 bis 48 Stunden nach der letzten Fütterung 2 g Phlorizin (Merck) erhielten, das in Ölemulsion subcutan injiziert wurde. 48 Stunden später erfolgte eine zweite Einspritzung von 2 g Phlorizin, und 12 Stunden nach der zweiten Phlorizingabe wurde die Brenztraubensäure injiziert. Der Harn wurde stets mittels Katheter entnommen, die Blase mehrmals nachgespült.

In den Harnen der beiden 12stündigen Perioden wurde der Zucker titrimetrisch nach Pavy-Kumagawa-Suto und der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Es zeigte sich nun gleich bei den ersten Versuchen, daß die Brenztraubensäure für die Phlorizin-Kaninchen stärker giftig ist als für normale Tiere. Während gesunde Kaninchen von 2 bis 2,5 kg Gewicht selbst noch am 10. Hungertage nach Zufuhr von 7 bis 8 g Brenztraubensäure am Leben blieben,

---

[1]) Die Darstellung des brenztraubensauren Natriums geschah durch sorgfältige Neutralisation der mit Wasser verdünnten Brenztraubensäure durch NaOH unter Eiskühlung. Von der Verwendung des Ammonsalzes, so nahe diese auf Grund der Mitteilungen von Cremer (Medizin. Klinik **50**, 1912) vielleicht gelegen hätte, habe ich abgesehen. Denn nach den Feststellungen von de Jong (Rec. des trav. chim. des Pays Bas **23**, 131, 1904) ist das Ammonsalz nur in Gegenwart von Alkohol bei —10° darstellbar, während die Bereitung bei Zimmertemperatur zu Kondensationsprodukten führt, die mit Brenztraubensäure nichts mehr zu tun haben. Auf die daraus erwachsende Fehlerquelle möchte ich besonders aufmerksam machen.

[2]) Parnas und Baer, l. c.

erwiesen sich für gleichschwere Tiere, die mit Phlorizin vorbehandelt waren, schon 5 g meist als tödliche Dosis. Nach einer Reihe von mißlungenen Versuchen, bei denen die Kaninchen vor Beendigung des Experimentes zugrunde gingen, habe ich nicht mehr als 4 g Brenztraubensäure injiziert. Allerdings war bei dieser relativ kleinen Dosis, die beim normalen Kaninchen noch nicht zur Glucosurie führt, von vornherein damit zu rechnen, daß selbst bei Bildung von Zucker aus Brenztraubensäure sich kein deutlicher Ausschlag zeigen würde, da ja doch die Brenztraubensäure nicht mit ihrem gesamten Kohlenstoffgehalt in Zucker überzugehen braucht; und dies um so mehr, als bei der gewählten Versuchsanordnung stets nur ein Bruchteil des entstandenen Zuckers im Harn erscheint.

Die Versuche ergaben nun ein völlig unerwartetes Resultat.

Versuch 1.

Kaninchen von 1950 g. 2 g Phlorizin 48 Stunden vor Beginn der beiden Perioden.

Zeit	Periode Std.	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g
8h abends	—	2 g Phlorizin	—	—	—
8h früh	12	4 g Brenztraubensäure	170	1,42	0,53
8h abends	12	—	80	0,43	0,21

Versuch 2.

Kaninchen von 2300 g. 2 g Phlorizin 48 Stunden vor Beginn der beiden Perioden.

Zeit	Periode Std.	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g
9h früh	—	2 g Phlorizin	—	—	—
9h abends	12	4 g Brenztraubensäure	170	3,74	0,95
9h früh	12	—	145	0,98	0,29

Versuch 3.

Kaninchen von 2170 g. 2 g Phlorizin 48 Stunden vor Beginn der beiden Perioden.

Zeit	Periode Std.	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g
8 1/2h früh	—	2 g Phlorizin	—	—	—
8 1/2h abends	12	4 g Brenztraubensäure	150	2,25	0,63
8 1/2h früh	12	—	110	0,84	0,39

Versuch 4.

Kaninchen von 2080 g. 2 g Phlorizin 48 Stunden vor Beginn der beiden Perioden.

Zeit	Periode Std.	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g
$8^{1}/_{2}{}^{h}$ früh	—	2 g Phlorizin	—	—	—
$8^{1}/_{2}{}^{h}$ abends	12	3 g Brenztraubensäure	210	3,00	0,98
$8^{1}/_{2}{}^{h}$ früh	12	—	240	0,86	0,30

Es ist aus diesen Tabellen ersichtlich, daß in jedem Versuch in der 12stündigen Periode nach der Brenztraubensäurezufuhr nicht nur keine Zunahme der Zuckerausscheidung erfolgt ist, sondern im Gegenteil eine sehr erhebliche Verminderung, die sich auch auf die Stickstoffausscheidung erstreckt. Dieser Abfall ist weit größer als er durch das Phlorizin allein zustande kommt. Zum Vergleich führe ich an, daß in einem Normalversuch von Parnas und Baer die Glucoseausscheidung in der ersten 12stündigen Periode 1,337 g, in der zweiten 1,01 g betrug, und die Stickstoffausscheidung 1,5 g und 1,36 g. In einem anderen ihrer Versuche waren die Werte für Zucker: 2,21 g und 1,545 g und für Stickstoff: 0,95 g und 0,86 g.

Es muß also in meinen Versuchen diese auffallende Abnahme der Glucose- und Stickstoffausscheidung durch die Brenztraubensäure bewirkt worden sein. Auf die Deutung dieser Ergebnisse werde ich später zurückkommen und will zunächst die Resultate der an Hunden angestellten Versuche mitteilen.

Versuche an Hunden.

Die Giftwirkung der Brenztraubensäure ist nach meinen Erfahrungen für Hunde noch stärker als für Kaninchen. Dosen von 3 bis 4 g pro Kilogramm Körpergewicht, die für Kaninchen noch relativ ungiftig sind, wirken bei Hunden meist tödlich. Die Empfindlichkeit der Tiere gegen die Brenztraubensäure ist aber eine sehr verschiedene und hängt offenbar von der Rasse und von individuellen Faktoren ab, so daß es nicht möglich ist, die tödliche Dosis pro Kilogramm Körpergewicht einigermaßen genau festzustellen. Tiere von 7 kg beispielsweise können nach Injektion von 15 g Brenztraubensäure am Leben bleiben,

während Hunde von 12 kg nach 20 g, also einer relativ kleineren Dosis, bisweilen nach wenigen Stunden zum Exitus kommen.

Zunächst habe ich festgestellt, daß die Brenztraubensäure — als Natriumsalz subcutan einverleibt — auch beim Hunde Glucosurie und Hyperglykämie hervorruft. Nach dem Gesagten bin ich allerdings nicht imstande, mit Sicherheit anzugeben, bei welcher Dosis pro Kilogramm Körpergewicht diese Wirkung auftritt, da kleine Dosen ohne Effekt sind und größere Mengen häufig den Tod des Tieres herbeiführen. Ich teile daher nur einige Versuche mit positivem Ergebnisse mit.

Versuch 5.

Hund von 8,2 kg erhält 10 g Brenztraubensäure und scheidet innerhalb der nächsten 15 Stunden 0,94 g Zucker aus. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 6.

Hund von 7,5 kg scheidet nach Verabfolgung von 15 g Brenztraubensäure innerhalb der nächsten 24 Stunden 1,5 g Zucker aus. Das $3^1/_2$ Stunden nach der Brenztraubensäurezufuhr aus der Carotis entnommene Blut enthält $0{,}173\,^0/_0$ Zucker. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 7.

Hund von 11,9 kg erhält 20 g Brenztraubensäure. Die nach 4 Stunden vorgenommene Blutzuckerbestimmung ergibt den hohen Wert von $0{,}728\,^0/_0$. Das Tier stirbt kurz nach der Blutentnahme. In der Blase wenige Kubikzentimeter Harn, die Fehlingsche Lösung reduzieren.

Es kam mir nun vor allem darauf an, durch zweckmäßig an Hunden ausgeführte Phlorizinversuche festzustellen, ob aus der Brenztraubensäure Zucker entstehen kann. Die Anregung, den Phlorizindiabetes zur Prüfung der Frage zu verwenden, ob gewisse Substanzen zur Zuckerbildung befähigt sind, ist bekanntlich von Cremer und Ritter[1]) ausgegangen. Die Methode wurde dann durch Graham Lusk und seine Schüler[2])

[1]) Cremer und Ritter, Zeitschr. f. Biol. 29, 256, 1893. — Cremer, ebendas. N. F. 11, 484, 1893.

[2]) Lusk, Phlorizinglucosurie in „Ergebnisse der Physiologie" 13, 315, 1912.

weiter ausgebildet. Diese Forscher haben gezeigt, daß, wenn man Karenzhunden 3 mal innerhalb 24 Stunden, in 8 stündigen Intervallen, 1 g Phlorizin injiziert, das Verhältnis D : N etwa 3,3 bis 3,9 beträgt. Wenn man in diesem Stadium der „totalen" Phlorizinglucosurie, in dem aller im Organismus unter Zersetzung von Eiweiß gebildeter Zucker ausgeschieden wird, Glucose einführt oder eine Substanz, die im Tierkörper in Traubenzucker übergeht, so erscheint dieser Zucker nahezu quantitativ im Harn (Extrazucker). Man kann nun diesen beschwerlichen Applikationsmodus des Phlorizins, bei dem dasselbe auch während der Nacht injiziert werden muß, umgehen und doch eine komplette Glucosurie mit dem hohen Verhältnis von Dextrose zu Stickstoff erzielen, wenn man die von Coolen[1]) beschriebene Methode befolgt, die besonders von Ringer[2]) empfohlen und später auch von Parnas und Baer[3]) und von Cremer[4]) angewandt wurde. Sie besteht darin, daß man das Phlorizin in einer Ölemulsion injiziert (1 g fein pulverisiertes Phlorizin in ca. 7 ccm Olivenöl suspendiert). Auf diese Weise kann eine einzige Injektion von 1 g Phlorizin beim Hunde eine maximale Glucosurie erzeugen, die sich mehrere Tage auf ihrer Höhe hält. Offenbar bleibt das Phlorizin zum Teil in den Fettkügelchen eingeschlossen, so daß es nur langsam, aber dauernd in den Kreislauf gelangt, so lange noch etwas von dem injizierten Öl an der Stelle der Injektion zersetzt wird (Lusk[5]).

Auch bei meinen Versuchen habe ich das Phlorizin (Merck) in der angegebenen Weise injiziert[6]). Nach 2 bis 3 tägiger Karenz erhielten die Tiere täglich zur selben Zeit 1 g Phlorizin. Während des ganzen Versuches wurde nur Wasser ad libitum gereicht. Zu Beginn der 4. Phlorizinperiode wurde die Brenztraubensäure als Natriumsalz subcutan verabfolgt. Der Harn wurde mittels Katheter entnommen, selbstverständlich wurde

[1]) Coolen, Arch. de Pharmacodynamie 1, 267, 1895.
[2]) Siehe bei Lusk, l. c.
[3]) Parnas und Baer, l. c.
[4]) Cremer, Med. Klinik 50, 1912.
[5]) Lusk, l. c.
[6]) Absceßbildung an den Injektionsstellen habe ich bei peinlicher Asepsis nur selten beobachtet.

die Blase mehrere Male ausgespült, und alle sonstigen erforderlichen Kautelen wurden peinlichst beobachtet. Der Harn wurde entweder von 24 stündigen oder von 12 stündigen Perioden untersucht, der Stickstoff wiederum nach Kjeldahl, der Zucker nach Pavy-Kumagawa-Suto ermittelt. Im Harn der 1. Periode wurde meist keine Bestimmung ausgeführt.

Auch bei diesen Versuchen machte sich die ungleiche Empfindlichkeit der Hunde gegen die Brenztraubensäure recht störend geltend, um so mehr als ebenso wie bei den Kaninchen durch die Phlorizinintoxikation die Giftwirkung der Brenztraubensäure noch gesteigert wird. Eine Reihe von Versuchen konnte daher nicht zu Ende geführt werden, weil die Tiere kurz nach der Brenztraubensäurezufuhr ad exitum kamen.

In den folgenden Tabellen sind die Zahlen, die sich auf die Brenztraubensäureperiode beziehen, fett gedruckt. Die gelegentlichen großen Differenzen der ausgeschiedenen Harnmenge erklären sich dadurch, daß die Versuchstiere öfters spontan Harn entleerten, und der Käfig dann nachgespült werden mußte.

Versuch 8.

Hündin von 12,7 kg, hungert 2 Tage vor Beginn des Versuches.

Tag	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g	D : N
1	1 g Phlorizin	—	—	—	—
2	1 g „	—	—	—	—
3	1 g „	600	34,52	9,87	3,49
4	1 g Phlorizin, 10 g Brenztraubensäure	660	36,31	10,67	3,40
5	1 g Phlorizin	**1100**	**34,32**	**10,23**	**3,35**
6	—	**850**	**28,90**	**10,27**	**2,81**

Versuch 9.

Hündin von 12,4 kg, hungert 3 Tage vor Beginn des Versuches.

Tag	Zeit	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g	D : N
1	1/2 9 früh	1 g Phlorizin	—	—	—	—
2	1/2 9 „	1 g „	—	—	—	—
	1/2 9 abends	—	435	11,44	3,37	3,39
3	1/2 9 früh	1 g Phlorizin, 8 g Brenztraubensäure	405	10,65	3,27	3,25
	1/2 9 abends	—	**890**	**12,19**	**4,28**	**2,84**
4	1/2 9 früh	—	**750**	**12,90**	**4,98**	**2,59**

Versuch 10.

Hündin von 6,4 kg, hungert 3 Tage vor Beginn des Versuches.

Tag	Zeit	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g	D : N
1	1/2 9 früh	1 g Phlorizin	—	—	—	—
	1/2 9 abends	—	415	12,45	2,61	4,77
2	1/2 9 früh	1 g Phlorizin	830	11,20	2,49	4,49
	1/2 9 abends	8 g Brenztraubensäure	465	13,48	2,92	4,61
3	1/2 9 früh	—	**450**	**1,45**	**0,53**	**2,73**

Versuch 11.

Hündin von 10,2 kg, hungert 3 Tage vor Beginn des Versuches.

Tag	Phlorizin Brenztraubensäure	Harnmenge ccm	Zucker g	Stickstoff g	D : N
1	1 g Phlorizin	—	—	—	—
2	1 g "	—	—	—	—
3	1 g "	1000	31,84	9,33	3,41
4	1 g Phlorizin, 12 g Brenztraubensäure	1780	32,93	9,38	3,51
5	—	**650**	**3,41**	2,05	**1,66**

Bei Betrachtung dieser Tabellen fällt sogleich auf, daß die Brenztraubensäure in keinem Versuch zu einer Ausscheidung von Extrazucker geführt hat. Denn auch das geringe Ansteigen des Zuckers in Versuch 9 ist nicht auf die Bildung von Extrazucker zu beziehen, weil gleichzeitig die Stickstoffausscheidung so erheblich zunimmt, daß der Quotient D:N sogar absinkt. Es ist aber aus den Tabellen weiterhin ersichtlich, daß die Brenztraubensäure unter Umständen geradezu eine Verminderung der Glucoseausscheidung bewirken kann. In Versuch 8 ist dieser Einfluß der Brenztraubensäure nur angedeutet und kommt erst in der Nachperiode etwas stärker zum Ausdruck. Dagegen zeigt sich diese Wirkung in eklatanter Weise in den Versuchen 10 und 11. Hier ist nach der Brenztraubensäurezufuhr ein mächtiges Absinken der Zuckerausscheidung erfolgt bei gleichzeitiger erheblicher Verminderung der Stickstoffausscheidung.

Deutung der verminderten Zucker- und Stickstoffausscheidung unter dem Einfluß der Brenztraubensäure im Phlorizindiabetes.

Ein Analogon für die erwähnten Befunde haben wir in der Wirkung einer Reihe von Dicarbonsäuren — besonders der Glutarsäure und der Weinsäure —, die von Baer und Blum[1]) beschrieben wurde. Diese Substanzen führten bei Hunden mit Phlorizindiabetes zu einem starken Absinken, oft sogar zur vollständigen Unterdrückung der Zuckerausscheidung unter beträchtlicher Verminderung der Stickstoffausscheidung. Auf Grund zahlreicher Versuche hielten die Autoren es für erwiesen, daß die Glutarsäure in irgendeiner Weise hemmend auf die Bildung von Zucker aus anderen Materialien als Kohlenhydraten einwirkt. Die Befunde von Baer und Blum konnten allerdings von verschiedenen Seiten nicht in vollem Umfange bestätigt werden [Wilenko[2]), Ringer[3]), Frank und Isaac[4]), Wolf und Oesterberg[5])], und der Deutung ihrer Ergebnisse sind besonders von Graham Lusk[6]) gewichtige Argumente entgegengehalten worden. Indes ist jüngst Underhill[7]) für die Weinsäure sowohl bei Kaninchen wie bei Hunden zu ganz den gleichen Resultaten gekommen wie Baer und Blum. Die Ursache für diese Erscheinung fanden sie aber nicht in einer Einwirkung auf die Stoffwechselvorgänge, sondern wie Wilenko schon für die Glutarsäure vermutet hatte, lediglich in einer Nierenwirkung. Denn Underhill fand bei der mikroskopischen Untersuchung der Nieren das Epithel der Harnkanälchen zum Teil ganz nekrotisch, und diese selbst mit großen hyalinen und granulierten Cylindern angefüllt, die oft Hämoglobin enthielten.

Diese schweren Nierenveränderungen, die nach Weinsäurezufuhr bei den Phlorizintieren auftraten, und die übrigens

---

[1]) Baer und Blum, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 80, 1907; **11**, 101, 1908; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 1, 1911.

[2]) Wilenko, Deutsche med. Wochenschr. **34**, 1385, 1908.

[3]) Ringer, s. bei Graham Lusk, l. c.

[4]) Frank und Isaac, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 309, 1911.

[5]) Wolf und Oesterberg, Americ. Journ. of Physiol. **28**, 71, 1911.

[6]) Graham Lusk, l. c.

[7]) Underhill, Journ. of Biolog. Chem. **12**, 115, 1912.

schon durch die Weinsäure allein ohne Phlorizin hervorgerufen werden konnten, erklären zur Genüge, wie Underhill betont, daß das Nierenfilter für Zucker gedichtet wird.

Nach diesen Feststellungen war es für mich sehr naheliegend, auch bei der Brenztraubensäure an eine Wirkung derselben auf die Nieren zu denken. Daß die Brenztraubensäure an sich bereits eine Nierenreizung verursacht, habe ich schon in meiner ersten Arbeit betont, da die Harne öfters deutliche Spuren Eiweiß enthielten. Daß sie aber für sich allein die sekretorische Funktion der Nieren wenigstens für Zucker nicht nachweislich beeinträchtigt, erhellt aus der Tatsache, daß sie ja gerade eine Glucosurie hervorruft. Wohl aber konnte dies der Fall sein bei gleichzeitiger Vergiftung mit Phlorizin, das bekanntlich selbst die Nierenstruktur schädigt, indem beide Giftwirkungen sich superponieren.

Ich habe deshalb, als ich schon bei den ersten Versuchen an Kaninchen die auffallende Verminderung der Zucker- und N-Ausscheidung beobachtet hatte, mein Augenmerk sogleich auf die Nieren gerichtet. In zwei Versuchen (2 und 3) wurden die Nieren genau untersucht[1]). Es fanden sich in beiden Fällen neben mäßiger Hyperämie und Fettinfiltration starke Cylinderbildung in den Tubuli contorti und schollige Niederschläge, wahrscheinlich albuminöser Natur, im Lumen der gewundenen Kanälchen. Ein ähnliches Bild zeigten die Nieren eines Hundes (Versuch 10), bei dem das Absinken der Zuckerausscheidung besonders ausgesprochen gewesen war. Das Tier wurde nach Beendigung des Versuchs getötet, und der pathologische Anatom konstatierte bei der mikroskopischen Untersuchung der Nieren: kalkhaltige Cylinder in den geraden Kanälen der Papille, Trübung und geronnene Massen in den Tubuli contorti, Hämoglobinniederschläge.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß diese Nierenveränderungen andersartige und intensivere sind als diejenigen, die durch Phlorizin allein zustande kommen, das Veränderungen des Harnkanälchenepithels hervorruft, aber niemals Zylinderbildung.

---

[1]) Alle Nierenpräparate haben pathologischen Anatomen vorgelegen, so daß an der richtigen Deutung der histologischen Befunde kein Zweifel obwalten kann.

Man ist also durchaus berechtigt, die Ursache für die Herabsetzung der Zucker- und N-Ausscheidung durch die Brenztraubensäure darin zu suchen, daß beim phlorizinvergifteten Tier die Brenztraubensäure das Nierenfilter für Zucker und harnfähige Stickstoffderivate undurchlässiger macht, wenn auch das Harnwasser, wie aus den Tabellen ersichtlich ist, anscheinend normal sezerniert wird.

Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht auch die Tatsache, daß bei denjenigen Hunden, die keine wesentliche Verminderung der Zucker- und N-Ausscheidung zeigten, auch die Nieren nicht die charakteristischen Veränderungen aufwiesen. So ergab die Untersuchung in Versuch 9 nur geringe Hyperämie, starke Fettinfiltration und Degeneration einiger Malpighischer Körperchen. Zum Vergleich führe ich noch den Nierenbefund eines Hundes an, der kein Phlorizin, sondern nur Brenztraubensäure erhalten hatte, und der nach Injektion von 20 g Brenztraubensäure innerhalb 4 bis 5 Stunden eingegangen war. Es fand sich nur Hyperämie und fleckweise Verfettung der Harnkanälchen.

Daß man dieses Absinken der Zucker- und N-Ausscheidung nicht in jedem Versuche beobachtet, ist ohne weiteres klar, da dies offenbar von der Menge der zugeführten Brenztraubensäure abhängt, und es bei der ungleichen Empfindlichkeit der Tiere gegen die Brenztraubensäure nach meinen früheren Ausführungen schwer ist, gerade die Dosis zu treffen, bei der die Tiere am Leben bleiben, und die doch groß genug ist, um die in Frage stehenden Nierenveränderungen hervorzurufen. Wenn nun beim Hund mit konstanter Phlorizinglucosurie die Brenztraubensäure das Nierenfilter für Zucker undurchlässiger macht, dann müßte sich diese Wirkung durch eine Hyperglykämie dokumentieren, die natürlich ohne die Dichtung des Nierenfilters gemäß dem Wesen des totalen Phlorizindiabetes nicht eintreten könnte. In der Tat erwies der folgende Versuch die Berechtigung dieser Forderung.

Versuch 12.

Einem hungernden Hunde (10,5 kg) injizierte ich am vierten Phlorizintage 15 g Brenztraubensäure. $2^1/_2$ Stunden später,

als das Tier bereits recht schwach war, wurde die Blutentnahme vorgenommen. Das Blut wurde nach Michaelis und Rona enteiweißt, und der Zucker im eingeengten Filtrat polarimetrisch bestimmt. Ich fand 0,25 % Zucker im Blut, also eine sichere Hyperglykämie. Leider hatte ich nicht rechtzeitig daran gedacht, daß in diesem Falle die Zuckerbestimmung mittels der Polarisation zu niedrige Werte ergeben mußte, da ja das Blut von Hunden mit schwerem Phlorizindiabetes Phlorizin, Phlorizinglucuronsäure und β-Oxybuttersäure enthält, die sämtlich linksdrehend sind. Da also in Wirklichkeit die Hyperglykämie eine noch beträchtlichere gewesen sein muß, so ist der durch Polarisation gefundene Wert a fortiori beweisend. Zur Kontrolle wurden die Nieren dieses Tieres untersucht. Das mikroskopische Bild zeigte wiederum die charakteristischen kalkhaltigen Zylinder, die namentlich das Lumen der Tubuli recti ausfüllten. Schollige Niederschläge in den Harnkanälchen, wie in den früheren Versuchen, wo die Tiere erst 12 Stunden nach der Brenztraubensäurezufuhr getötet wurden, waren hier nicht zu konstatieren.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Wenn ich die wichtigsten Resultate der vorstehenden Untersuchungen zusammenfasse, so ergeben sich folgende Tatsachen:

1. In geeigneter Dosis verabfolgt, bewirkt die Brenztraubensäure bei Kaninchen und Hunden mit totalem Phlorizindiabetes eine schwere Schädigung der Nieren, so daß das Nierenfilter für Zucker und stickstoffhaltige Derivate mehr oder minder gedichtet wird und infolgedessen die Zucker- und Stickstoffausscheidung beträchtlich absinkt.

2. Auch in denjenigen Fällen, wo das Eliminationsvermögen der Nieren nicht erkennbar beeinträchtigt wird, bewirkt die Brenztraubensäure, in genügend großer Menge zugeführt, beim Phlorizintier keine Ausscheidung von Extrazucker.

Nach diesen Befunden könnte die Schlußfolgerung gerechtfertigt erscheinen, daß die Brenztraubensäure kein Zuckerbildner ist. Bei näherer Würdigung aller in Betracht kommenden Faktoren erscheint es jedoch zweifelhaft, ob gerade im Falle

der Brenztraubensäure Versuche an phlorizinvergifteten Tieren geeignet sind, die Frage nach der Umwandlung in Glucose einwandfrei zu entscheiden. Einmal wäre es denkbar, daß in denjenigen Fällen, wo keine manifesten Nierenschädigungen auftreten und die Zuckerausscheidung annähernd unverändert bleibt, doch bereits das Eliminationsvermögen der Nieren für Zucker gelitten hat, so daß der eventuell aus Brenztraubensäure gebildete Zucker zum Teil retiniert wird. Dann braucht auch bei einer Umwandlung der Brenztraubensäure in Glucose keine Mehrausscheidung von Zucker im Phlorizindiabetes aufzutreten, um so mehr als ja die Zuckerbildung aus der Brenztraubensäure nur in geringem Ausmaße erfolgen könnte. Schon diese Überlegung zeigt, daß ein absolut zwingender Beweis für einen eventuellen Übergang der Brenztraubensäure in Zucker durch den Phlorizinversuch gar nicht geliefert werden kann.

Es müssen jedoch noch ganz andere Möglichkeiten in Betracht gezogen werden. Die Brenztraubensäure kann chemisch, wahrscheinlich auch im Tierkörper, in Milchsäure und Alanin umgewandelt werden. Für beide Substanzen, auch für deren inaktive Formen, ist die Befähigung der Extrazuckerbildung im Phlorizindiabetes erwiesen. Wenn also die nahe verwandte Brenztraubensäure sich im Phlorizindiabetes nicht als Zuckerbildner erweist, so könnte dies darauf beruhen, daß die Reduktion zu Milchsäure oder die Überführung in Alanin aus irgendeinem Grunde beim Phlorizintier unterbleibt.

Wie kompliziert die Verhältnisse liegen, und wie wenig eindeutig der Phlorizinversuch zur Entscheidung solcher Fragen überhaupt ist, mag folgende Erwägung illustrieren. Neben der erwähnten Schädigung der Nieren könnten auch Veränderungen im Chemismus den Grund dafür abgeben, daß Brenztraubensäurezufuhr die Zuckerausscheidung bei phlorizindiabetischen Tieren vermindert. Die Konstanz des Quotienten D:N besagt doch, daß eine bestimmte Menge Kohlenstoff des zerfallenen Eiweißes in Zucker übergeht. Wenn nun die Brenztraubensäure in irgendeiner Weise die Zuckerbildung aus diesen kohlenstoffhaltigen Resten hindert, sei es infolge ihrer Giftigkeit, sei es durch Zusammentritt mit einem Teile dieses sonst zuckerbildenden Kohlenstoff-

materials, so muß die Zuckerausscheidung sinken, trotz gleichbleibender oder sogar verstärkter Stickstoffelimination. Die Verhältnisse lägen hierbei also ähnlich, wie sie zuerst Umber[1]) für die Frage der Zuckerbildung aus Eiweiß beim veritablen Diabetes diskutiert hat. Ja man kann sich vorstellen, daß die Brenztraubensäure ein Zuckerbildner ist, daß sie aber auf den angedeuteten Wegen ebensoviel oder auch mehr Eiweißkohlenstoff der Zuckersynthese entzieht als sie selbst Material zur Glucosebildung liefert, so daß die Bilanz null oder negativ wird.

Zu einem bündigen Schluß über die Natur der Brenztraubensäure-Glucosurie haben demnach die bisher angestellten Untersuchungen nicht führen können. Wie aber auch die Glucosurie nach Brenztraubensäurezufuhr schließlich zu deuten sein mag, die Befähigung der Brenztraubensäure oder ihr Unvermögen zur Zuckerbildung haben nichts mit der Frage zu tun, ob diese Säure eine Zwischenstufe des Zuckerabbaues darstellt. Denn die reversible Synthese von Zucker aus einem Zuckerabbauprodukt ist keineswegs eine Notwendigkeit. Ja man wird sogar, wenn weitere Forschungen die Anschauungen über die Rolle der Brenztraubensäure im Zuckerabbau bestärken sollten, die Frage aufwerfen können, ob nicht gerade eine ungewöhnliche intermediäre Bildung dieser Säure irgendwie am Zustandekommen bestimmter Formen des Diabetes melitus beteiligt ist. In erster Linie wird man an den schweren Diabetes denken, zumal die Brenztraubensäure nach den Untersuchungen von Neuberg sowie Embden über die Acetonkörper abgebaut werden kann.

---

[1]) F. Umber, Therapie d. Gegenwart, 1901, H. 10.

Über die Zerstörung von Milchsäurealdehyd und Methylglyoxal durch tierische Organe.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

In einer größeren Reihe von Mitteilungen haben Neuberg und seine Mitarbeiter die Anschauung begründet, daß die Gärung der Brenztraubensäure innerlich mit der alkoholischen Gärung des Zuckers verknüpft sei. Obgleich in rein chemischer Hinsicht die Herleitung der Brenztraubensäure, $CH_3.CO.COOH$, aus dem Traubenzucker keine Schwierigkeiten bereitet, ist man über den wahren Mechanismus einer physiologischen Brenztraubensäurebildung noch im unklaren.

Bereits in der ersten Mitteilung über die zuckerfreien Hefegärungen haben Neuberg und Hildesheimer[1]) die naheliegende Möglichkeit erwogen, daß die Brenztraubensäure durch eine Cannizarosche Umlagerung aus dem Methylglyoxal, $CH_3.CO.COH$, hervorgehe; und hier wie bei Neuberg und Kerb[2]) sind die anderen Produkte erörtert, die neben der Brenztraubensäure dabei gebildet werden könnten (Acetol, Milchsäurealdehyd). Bald nachdem Methylglyoxal durch die Arbeiten von Harries zugänglich geworden war, hatte ich P. Mayer[3]) zu Versuchen über die Gärfähigkeit des Methylglyoxals veranlaßt, da Wohl wie Nef in diesem ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung erblickt hatten. Allein die Versuche von Mayer mit lebender Hefe wie solche von Buchner und

---

[1]) C. Neuberg und A. Hildesheimer, diese Zeitschr. 31, 172, 1911.

[2]) C. Neuberg und J. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 114, 1912; diese Zeitschr. 47, 406, 1912.

[3]) P. Mayer, diese Zeitschr. 2, 435, 1906/1907.

Meisenheimer[1]) mit abgetöteter hatten ein absolut negatives Ergebnis. Es ist nun die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß Methylglyoxal nicht als solches, sondern in Form seiner Umlagerungsprodukte nach Cannizaro gärt, daß aber die Bedingungen für diese Umwandlung subtiler Natur sind. Da auch das nach der Ozonmethode bereitete Methylglyoxal stark giftige Verunreinigungen enthalten haben könnte, so haben wir die experimentelle Bearbeitung dieses Gebietes wieder aufgenommen. In dem Methylglyoxal, wie man es nach der Methode von Wohl und Lange bzw. Meisenheimer[2]) jetzt gewinnen kann, steht jedenfalls ein einwandfreies Material zur Verfügung.

Die mit dem Methylglyoxal in Betracht zu ziehenden Substanzen sind außer der Brenztraubensäure die erwähnten Umwandlungsprodukte Acetol, $CH_3.CO.CH_2OH$, und Milchsäurealdehyd, $CH_3.CHOH.COH$. Es sind 3 Arten der Hydratation des Methylglyoxals denkbar:

1.
$$\begin{matrix} CH_3.CO.COH & & O & & CH_3.CO.COOH \\ & + & | & = & + \\ CH_3.CO.COH & & H_2 & & CH_3.CO.CH_2OH \end{matrix}$$

2.
$$\begin{matrix} CH_3.CO.COH & & O & & CH_3.CO.COOH \\ & + & | & = & + \\ CH_3.CO.COH & & H_2 & & CH_3.CHOH.COH \end{matrix}$$

3.
$$\begin{matrix} CH_3.CO.COH & & \\ + & = & CH_3.CHOH.COOH \\ H_2-O & & \end{matrix}$$

Bei 1 entstehen Brenztraubensäure und Acetol, bei 2 Brenztraubensäure und Milchsäurealdehyd und bei 3 Milchsäure. Letztere stellt ein Stabilisierungsprodukt dar, während Brenztraubensäure, Acetol und Milchsäurealdehyd[3]) ausgesprochen labilen Charakter haben. In biologischer Hinsicht ist letzterer von besonderem Interesse. Von den genannten Substanzen sind Methylglyoxal und Milchsäurealdehyd nun relativ leicht zugänglich[2]). Über ihr Verhalten zu Hefe und Hefenfermenten wird später Frl. Dr. Elisabeth Róna berichten. Ihre Zugehörig-

[1]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. 39, 3201, 1906.

[2]) A. Wohl und W. Lange, Ber. 41, 3608 u. 3612, 1908; J. Meisenheimer, Ber. 45, 2635, 1912.

[3]) Acetol und Milchsäurealdehyd stehen zueinander im gleichen Verhältnis wie Traubenzucker und d-Fructose.

keit zur physiologisch wichtigen Drei-Kohlenstoffreihe, sowie ihr eigentümlicher chemischer Bau, der sie unter die möglichen Zuckerabbauprodukte einreiht, legten es nahe, auch ihr Verhalten zu tierischen Zellen zu prüfen. Dasselbe ist so bemerkenswert, daß über die ersten Feststellungen im folgenden kurz berichtet werden mag.

Die Versuchsanordnung wie die Analysenmethoden schließen sich eng an das Verfahren an, das Tschernorutzky[1]) im hiesigen Laboratorium beim Studium der Brenztraubensäurezerstörung durch tierische Organe befolgt hat.

Zur Verwendung gelangten stets 0,5 %ige Lösungen von Methylglyoxal und d, l-Milchsäurealdehyd in physiologischer Kochsalzmischung.

Zu je 200 ccm dieser Lösungen wurden 10 bis 20 g der frisch entnommenen und sofort zerkleinerten Hundeorgane (Leber, Muskeln) gefügt. Nach Zugabe von Toluol oder Senföl, das in letzter Zeit Salkowski[2]) als sehr brauchbares Antisepticum empfiehlt, wurde das Gemisch in den Brutschrank gestellt.

Die Abnahme bzw. das Verschwinden des Methylglyoxals und des Milchsäurealdehyds konnte durch Behandlung eines aliquoten Teiles der mit kolloidalem Eisenhydroxyd geklärten Mischung mit einer filtrierten Lösung von essigsaurem p-Nitrophenylhydrazin bestimmt werden. Beide Substanzen liefern damit das früher von Neuberg und Kansky[3]) beschriebene Methylglyoxal-p-nitrophenylhydrazon. Nach Zugabe des p-Nitrophenylhydrazinacetats läßt man 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehen und erwärmt erst dann auf dem Wasserbade. Diese Maßregel hat den Zweck, die flüchtigen Substanzen Methylglyoxal und Milchsäurealdehyd erst in der Kälte an die Hydrazinbase zu binden. Zur Vervollständigung der Osazonabscheidung genügt dann beim Methylglyoxal eine Erhitzung von etwa 45 Minuten, während man beim Milchsäurealdehyd mehrere Stunden erwärmen muß[4]). In beiden

[1]) M. Tschernorutzky, diese Zeitschr. 43, 486, 1912.

[2]) E. Salkowski, diese Zeitschr. 40, 486, 1912.

[3]) C. Neuberg u. E. Kanski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 956, 1908.

[4]) Die Darstellung des p-Nitrophenylosazons hat vor der Abscheidung als gewöhnliches Phenylosazon den Vorteil, daß die Nitroverbindung schwerer löslich ist, direkt fest ausfällt und nicht zur Verharzung neigt.

Fällen muß man dafür sorgen, daß die Flüssigkeit gleichzeitig etwa zur Hälfte abdampft. Kontrollbestimmungen ergaben, daß man unmittelbar nach der Herstellung der Gemische von Substanz und Organbrei durch sofortige Behandlung mit Ferrihydroxyd eine Lösung gewinnt, die im Falle des Methylglyoxals praktisch die gesamte angewendete Substanz enthält. Beim Milchsäurealdehyd ist die Osazonmethode weniger scharf, doch für vergleichende Bestimmungen genau genug.

Diese ergaben, daß in 24 Stunden sämtliches Methylglyoxal verschwunden ist. Der Milchsäurealdehyd konnte in einigen Fällen erst nach 96stündiger Digestion nicht mehr nachgewiesen werden; außer durch die Probe mit essigsaurem Nitrophenylhydrazin verrät er sich durch sein starkes Reduktionsvermögen, das sich schon in der Kälte geltend macht. Für das nur schwach reduzierende Methylglyoxal fällt diese angenehme Kontrolle fort. Die von Denigès[1]) angegebene Farbenreaktion des Methylglyoxals hat in den Organauszügen nicht immer eindeutige Resultate geliefert.

In einigen Versuchen mit Leberbrei ist auch bereits nach 6 Stunden kein Methylglyoxal mehr nachweisbar gewesen, nach 4 Stunden war schon eine erhebliche Abnahme feststellbar. Unzweifelhaft besitzt die Leber ein bemerkenswert hohes Zerstörungsvermögen für Methylglyoxal.

Setzt man Milchsäurealdehyd wie Methylglyoxal mit gekochtem Leber- oder Muskelbrei an, so verschwinden die Drei-Kohlenstoffkörper nicht.

Da die hinreichend lange mit Leber oder Muskeln digerierten Lösungen von Methylglyoxal und Milchsäurealdehyd keine mit p-Nitrophenylhydrazin reagierende Substanz mehr enthalten, so können die Umwandlungsprodukte keine Keton- oder Aldehydfunktion besitzen. Ein starker Kohlensäuredruck war während des Verweilens im Brutschrank nicht aufgetreten.

Die Struktur beider Substanzen legt den Gedanken an einen Übergang in Milchsäure nahe. Tatsächlich gelingt es leicht, unter Berücksichtigung der Angaben von Mondschein[2]), eine auffallend große Menge Milchsäure, namentlich in

[1]) M. Denigès, Bull. Soc. Chim. [4] 5, 649, 1909.

[2]) J. Mondschein, diese Zeitschr. 42, 105, 1912.

den Versuchen mit Methylglyoxal, als Zinksalz abzuscheiden. Es handelte sich um ein Gemisch von inaktiver und rechtsdrehender Form.

Wenn auch die Menge des abgeschiedenen Zinklactats, z. B. 0,78 g aus 1 g Methylglyoxal in Gegenwart von 10 g Leberbrei nach 24 Stunden, erheblich die übertraf, die in den allein mit Wasser digerierten Organbreiproben auftrat, so erschwert die bekannte Bildung und Zerstörung von Milchsäure in autolysierenden Organen die Beurteilung der quantitativen Verhältnisse. Gegenstand weiterer Untersuchungen muß auch die Frage bilden, ob die Milchsäure durch einfache Hydratation des Methylglyoxals[1]) bzw. durch Oxydation von Milchsäurealdehyd gebildet ist, oder ob sie die Brenztraubensäurestufe durchlaufen hat. Die optischen Verhältnisse können nicht ohne weiteres zur Klärung dieses Punktes beitragen. Denn gegen die Embdensche Auffassung[2]), daß die optisch aktive Milchsäure in der Natur stets aus entsprechend drehendem Glycerinaldehyd hervorgehe, während Dioxyaceton die Muttersubstanz der racemischen Milchsäure darstelle, lassen sich schwere Bedenken erheben. Bezüglich dieser Verhältnisse sei auf die Ausführungen von Neuberg in Oppenheimers Handb. d. Biochemie, Ergänzungsband 1913, verwiesen.

Weiter ist zu prüfen, ob diese Art der Milchsäureentstehung mit der interessanten Bildung aus dem Lactacidogen Embdens etwas zu tun hat. Wie diese scheint sie durch schwache Erhöhung der Hydroxylionenkonzentration (Natriumbicarbonat, Phosphatgemisch) begünstigt zu werden.

---

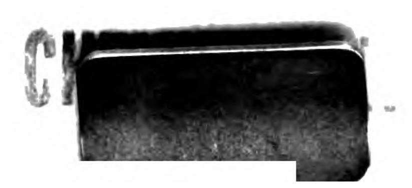
[1]) Vgl. A. Wohl, diese Zeitschr. **5**, 56, 1907.

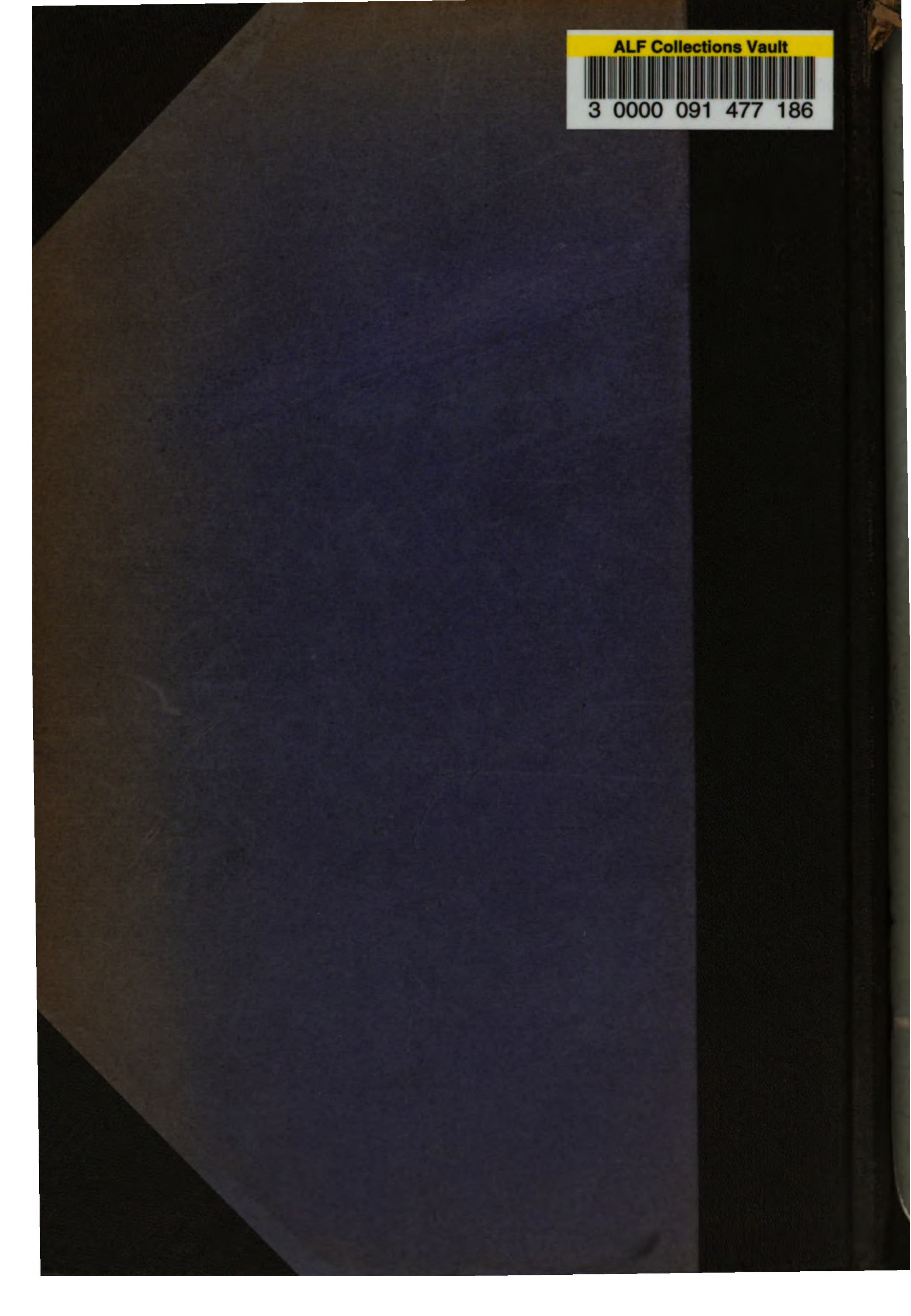
[2]) G. Embden u. Mitarbeiter, diese Zeitschr. **45**, 108, 1912.

Autorenverzeichnis.








ALF Collections Vault
3 0000 091 477 186